J. Kaden

Berlijn 1971

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548901_0020

Aus der Arbeitsgruppe Transplantation im Forschungszentrum für Molekularbiologie und Medizin der Deutschen Akademie der Wissenschaften zu Berlin (Leiter: Prof. Dr. L.-H. Kettler) und dem Pathologischen Institut, dem Rudolf-Virchow-Haus der Charité (Direktor: Prof. Dr. L.-H. Kettler)

Herstellung und experimentelle Erprobung verschiedener Antihundelymphozytensera

Inaugural-Dissertation
(Promotion A)
zur
Erlangung der Doktorwürde der Medizinischen Fakultät des Wissenschaftlichen Rates der Humboldt-Universität zu Berlin

vorgelegt von
Jürgen Kaden aus Bischofswerda

Berlin 1971

5.10.71

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gliederung

		Seite
1.	Zu einigen Effekten antilymphozytärer Sera nach Berichten aus der Literatur	1
2.	Fragestellung	12
3.	Material und Methode	15
3.1	Gewinnung des Immunisierungsgutes	15
3.1.1	Lymphozytenisolierung aus dem peripheren Hundeblut	15
3.1.2	Gewinnung der Thymuszellsuspensionen	17
3.2	Herstellung der Antisera	17
3.2.1	Immunisierungsmodus	17
3.2.2	Bereitung der Antisera	20
3.3	In vitro-Testung	23
3.3.1	Hämagglutination	23
3.3.2	Lymphagglutination	23
3.4	In vivo-Testung	23
3.4.1	Applikationsmodus	23
3.4.2	Zytologie und Histologie	24
3.4.3	Vollhauttransplantation	24
4.	Ergebnisse	25
4.1	In vitro-Testung	25
4.2	In vivo-Testung	27
4.2.1	Blutbilduntersuchungen	27
4.2.2	Histologie lymphoider Organe	42
4.2.3	Überlebenszeit der Hauttransplantate	44
4.2.4	Beurteilung des Allgemeinzustandes der Hunde	45
5.	Diskussion	46
6.	Zusammenfassung	72

Anhang: 1. Literaturnachweis
2. Danksagung
3. Lebenslauf

1. Zu einigen Effekten antilymphozytärer Sera nach Berichten aus der Literatur

Mit der Intensivierung der Forschungsarbeiten auf dem Gebiet der Transplantationsimmunologie mußte zwangsläufig auch den Fragen der Immunosuppression Interesse entgegengebracht werden. Unter den dafür in Betracht kommenden Mitteln und Methoden schenkt man in der experimentellen Forschung seit etwa 10 Jahren (250) und in der klinischen Praxis seit etwa 4 Jahren (230, 232) dem sogenannten Antilymphozytenserum (folgend ALS genannt) besondere Beachtung.

Ein Rückblick auf die letzten 70 Jahre zeigt jedoch, daß es sich dabei keinesfalls um eine neue Erkenntnis handelt. Bereits 1899 stellte Elie METCHNIKOFF (161) ein Antimeerschweinchenlymphozytenserum her, das zytotoxische und agglutinierende Effekte gegen Milz- und Lymphknotenzellen aufwies. In den folgenden Jahren erschienen daraufhin eine Reihe von Ergebnissen über die Wirkung solcher Antisera (29, 51, 60, 87, 170, 184, 211, 212), denen einige Zeit später weitere folgten (59, 58, 63). Recht einheitlich wurde dabei in den ersteren Arbeiten über eine zeitlich begrenzte Lymphopenie berichtet, der wenig später eine Leukozytose folgte. Ebenso erkannte man die Komplementabhängigkeit des in vitro-Zytotoxizitätseffektes (184). Im Jahre 1937 legten CHEW und LAWRENCE (59) in einer ausführlichen Studie ihre Erfahrungen bei der Herstellung und Anwendung eines antilymphozytären Serums dar. Als Immunisierungsmaterial dienten Lymphknotenzellen von Meerschweinchen, die Kaninchen täglich über 3 Wochen intravenös injiziert wurden. Das gewonnene und komplementinaktivierte Serum absorbierten sie gegen Meerschweinchen- und Schaferythrozyten. Nach bereits einer intraperitonealen Injektion beobachteten sie eine beträchtliche

Lymphopenie, die länger als 40 Stunden anhielt. Durch wiederholte Applikationen konnten sie diese Lymphopenie auf mindestens 10 Tage verlängern. Eine leichte Neutrophilie war dabei ebenfalls eine konstante Erscheinung. Das untersuchte lymphoide Gewebe zeigte verschiedene Ausstrahlungen auf die Serumapplikation.

Alle vorher geschilderten Wirkungen des ALS, wie

- Lymphopenie,
- in vitro-Zytotoxizität,
- kompensatorische Neutrophilie und
- Veränderungen der lymphoiden Gewebe, werden auch in den neueren Untersuchungen immer wieder beobachtet.

Im folgenden soll ein summarischer Überblick über die in vivo- und in vitro-Resultate antilymphozytärer Sera aus der inzwischen kaum noch überschaubaren Literatur gegeben werden. Detaillierte Abhandlungen dabei auftauchender Fragen bezüglich der Herstellung und Wirkungsweise werden unter Punkt 5 gegeben.

Eine prädestinierte Methode zur Ermittlung der Effektivität eines ALS ist die Bestimmung der Hauthomotransplantatüberlebenszeit bei Nagern. Ersteals 1961 berichteten [illegible], und [illegible] (250) über die Verlängerung der Überlebenszeit homologer Hauttransplantate bei Meerschweinchen von 6 Tagen bei unbehandelten Tieren auf 10 Tage bei ALS-behandelten Tieren! Nachdem es 1963 [illegible] und [illegible] (203, 204) gelungen war, die Transplantatüberlebenszeit bei Ratten auf 25 Tage mittels entsprechender ALS-Behandlung auszudehnen, erlangte das ALS zunehmende Bedeutung auf dem Gebiet der Transplantationsimmunität. In der Zwischenzeit ist eine Vielzahl von Arbeiten erschienen, die einhellig die günstige Wirkung anti-

lymphozytärer Sera auf die Überlebenszeit homologer Hauttransplantate bei Nagern belegen (66, 68, 88, 107, 118, 120, 123, 145, 165, 172, 188, 191, 224, 227, 234, 235, 238, 260). Um die einzelnen Ergebnisse vergleichbar zu machen, sind die meisten Arbeitsgruppen dazu übergegangen, ihre Experimente an Inzuchttieren auszuführen, deren genetische Konstellation bekannt ist. Die Hauttransplantation zwischen im H-2 locus differenten Mäusen ist heute für diese Fragestellung zum Mittel der Wahl geworden.

Die bei den Nagern gesammelten Erfahrungen waren Grundlage weiterer Experimente an anderen Species. So untersuchten LÖCKER et al. (149) die Wirkung eines Antischweinelymphknotenzellenserums auf die Überlebenszeit homologer Hauttransplantate. In einer allerdings nur kleinen Versuchsreihe konnten sie diese von 8,3 Tagen bei unbehandelten Tieren auf 18,1 Tage bei der ALS-Gruppe ausdehnen, wobei die Verfasser besonders auf die Wahl einer genügend hohen Dosierung hinweisen.

Über ähnliche positive Resultate nach Anwendung von Antihumanlymphozytenglobulin auf die Überlebenszeit von Hauthomotransplantaten bei Primaten berichteten BAINES et al. (14, 16). Dieses Modell dient als in vivo-Test der Effektivität solcher ALS.

Als Beweis für die Wirksamkeit von Antihumanlymphozytensera beim Menschen selbst, muß die Verlängerung der Hauthomotransplantatüberlebenszeit unter alleiniger ALS-Applikation gelten. MONACO et al. (167, 168) konnten durch Versuche an Freiwilligen diesen Beweis antreten.

Die bisher erwähnten Versuchsanordnungen bezogen sich generell auf sogenannte Ersttransplantate ("first set"). Die durch sie ausgelöste Immunisierung des Rezipienten führt normalerweise

zu einer wesentlich früher beginnenden Abstoßung von Zweittransplantaten ("second set"). Durch Anwendung heterologer Antilymphozytenseren konnte selbst diese "second-set reaction" unterdrückt werden (145, 165, 235).

Die bei den Zweittransplantationen gewonnenen Erkenntnisse ermutigten viele Arbeitsgruppen, sich mehr und mehr dem Problem der Organtransplantation zuzuwenden. Dabei erwies sich die Nierentransplantation auf Grund technischer und anatomisch-funktioneller Gegebenheiten als besonders günstiges Studienobjekt. Prinzipiell wird in den meisten Arbeitsgruppen dabei so vorgegangen, daß bilaterale Nephrektomie und Nierenhomotransplantation in einer Sitzung erfolgen. Die Überlebenszeit der Kontrolltiere wird allgemein mit 5 - 9 Tagen angegeben (190). Eine ALS-Behandlung führt nach Angaben der einzelnen Verfasser nahezu ausnahmslos zu wesentlichen Verlängerungen der Transplantatüberlebenszeiten (1, 2, 9, 40, 62, 80, 116, 121, 163, 166, 189, 190, 195, 196, 222, 255, 265). Während die durchschnittlichen Überlebenszeiten von [illegible] et al. (195) mit 46,6 ± 10,2 Tagen angegeben werden, erreichte die Arbeitsgruppe um [illegible] und [illegible] (2, 166) maximale Überlebenszeiten von 250 - 350 Tagen. Natürlich sind die Ergebnisse auf Grund unterschiedlicher Dosierung, Applikation und Serumeffektivität nicht ohne weiteres zu vergleichen. Das scheint allerdings insofern auch nicht erforderlich, als es sicher nützlicher ist, nach optimalen Varianten einer immunsuppressiven Therapie ganz allgemein zu suchen. Ähnlich den Resultaten bei den Hunden konnten [illegible] und [illegible] (41) auch bei der Nierentransplantation die "second-set reaction" unterdrücken. Selbstverständlich wurde inzwischen die Wirksamkeit der ALS auch bei anderen Organtransplantationen getestet und nachge-

wiesen. Summarisch seien nur die Herztransplantation bei Hunden (30) und Ratten (100), die Lebertransplantation bei Hunden (231), die Lungentransplantation bei Hunden (125), die Nierentransplantation bei Ratten (113), sowie Corneatransplantationen und gleichzeitige Hauttransplantation bei Kaninchen (252, 253) genannt.

Da die immunkompetenten kleinen Lymphozyten natürlich nicht nur bei der Transplantationsreaktion von Bedeutung sind, war es folgerichtig, daß auch die anderen Reaktionen, die an sie gekoppelt sind bzw. an denen sie beteiligt sind, untersucht wurden. Damit war in sinnfälliger Weise eine Möglichkeit genutzt worden, um weitere Fakten zum Wirkungsmechanismus antilymphozytärer Sera zu sammeln.

Einen besonderen Platz nehmen darunter die experimentell induzierbaren immunologischen Krankheiten ein. So kann man durch intradermale Injektion von Mycobakterien und Mineralöl bei Ratten die sogenannte Adjuvans-Arthritis auslösen. [illegible] und [illegible] (241) gelang deren passive Übertragung mittels lymphoider Zellen, so daß dieses Krankheitsbild mit Berechtigung in den hier besprochenen Formenkreis gehört. Es verwundert somit auch nicht, daß der suppressive Effekt auf die Adjuvans-Arthritis von CURREY und ZIFF (64, 65) und von POMMERA und [illegible] (201) nachgewiesen werden konnte.

Eine weitere Modellerkrankung ist die experimentelle allergische Encephalomyelitis, die durch eine einmalige intradermale Injektion eines homologen oder heterologen Nucleoproteohomogenates zusammen mit komplettem Freundschen Adjuvans ausgelöst werden kann (138). Eine ALS-Applikation, die vor, gleichzeitig mit, oder auch erst nach erfolgter Sensibilisierung einsetzte, konnte die Morbidität signifikant reduzieren (136, 142,

143, 174, 250). Von Interesse ist dieses Krankheitsbild deshalb, weil Ähnlichkeiten zur multiplen Sklerose des Menschen bestehen (91, 92, 249).

Die intrazerebrale Inokulation des Virus der lymphozytären Choriomeningitis verursacht bei Mäusen meist eine letal ausgehende Enzephalitis, was das Resultat einer Überempfindlichkeitsreaktion gegen den Virus selbst oder gegen Virusprodukte sein soll (224). Einen Beweis für die Richtigkeit dieser Annahme erbrachte GLENNIE (100) mit seinen Experimenten, in denen er mit einem ALS die letale Wirkung der Virusinfektion unterdrücken konnte.

Andererseits wurde eine Erhöhung der Empfindlichkeit ALS-behandelter Tiere gegenüber intraperitonealer Virusapplikation beobachtet (239). Interessant sind in diesem Zusammenhang die Befunde von RUBIN et al. (175). Während die Mortalität Antithymozytenserum (ATS) - behandelter Mäuse nach intraperitonealer oder intravaginaler Infektion mit dem Herpes hominis Virus (Typ 1) gegenüber Kontrolltieren stark anstieg, war sie nach intracerebraler Inoculation in Abhängigkeit von der Virusdosis verlängert oder reduziert. Wesentlich ungünstiger scheinen die Ergebnisse von HIRSCH et al. (117) zu sein. Nach intravenöser Vaccinia-Infektion kam es wiederum bei ATS-behandelten Tieren zu einem Anstieg der Morbidität und Mortalität, wogegen eine intrazerebrale Infektion zwischen behandelten und unbehandelten Tieren keinen Unterschied erkennen ließ.

Ohne aus diesen Ergebnissen etwas schließen zu wollen, muß man bei der Beurteilung der Daten doch auf die unterschiedlich gewählten Virusdosen, Inokulationsorte und vor allen Virusarten hinweisen.

Nach diesem virologischen Aspekt seien noch einige Worte zur

Allergie vom verzögerten Typ gesagt. Hautreaktionen dieser Art konnten [illegible] und CLARKE (49) gegen Candida albicans, Histoplasmin, Mumps und Trychophyton mit ALS unterdrücken. Neben anderen Autoren (101) beschreiben auch [illegible] et al. (250) die Suppression der Tuberkulinreaktion, der kontaktallergischen Reaktion und der Hautreaktion auf gereinigtes Diphtherietoxoid.

Zum gleichen Formenkreis gehört auch die Granulomformation z.B. um die Eier von Schistosoma Mansoni (254). Mittels ALS beobachteten DOMINGO und WARREN (103) eine sichtbare Verminderung der Granulomreaktion um diese Eier in nichtsensibilisierten Tieren. Kein Effekt war dagegen auf die Granulomreaktion um Plastekügelchen auszuüben.

Zusätzlichen Einblick in die Vielseitigkeit der ALS-Wirkungen erlauben eine Reihe von Arbeiten mit recht spezieller Thematik. So ermittelten [illegible] und MONACO (224) einen protektiven ALS-Effekt bei Mäusen, die mit Plasmodium berghei infiziert worden waren, wobei die Verfasser einen möglichen "intrinsic antiparasitic effect" des ALS diskutierten. Andererseits förderte das ALS die Empfindlichkeit von Mäusen gegenüber Infektionen mit Mycobacterium tuberculosis und Mycobacterium lepraemurium (94), ebenso wie gegenüber Mycobacterium leprae (95). Letztere Ergebnisse unterstützen das Konzept einer zellvermittelten Abwehr und Immunität gegen pathogene Mycobakterien. Auf einen anderen Wirkungsmechanismus beruht sicherlich die Beobachtung von [illegible] (110), daß die Mortalität ALS-behandelter und Pseudomonas aeruginosa-infizierter Ratten wesentlich größer war als die der Kontrolltiere. Möglicherweise spielt hier eine Alteration phagozytierender Zellen mit dem Resultat einer Bakterienpersistenz eine wesentliche Rolle.

Diese Möglichkeit wird unterstützt durch die Ergebnisse des gleichen Autors (111), der nach Injektion von Tal ALS in Ratten eine Clearancereduktion gegenüber kolloidalem Kohlenstoff fand. Einen ähnlichen Befund erhoben [illegible] et al. (225), wobei sie jedoch mikroaggregiertes Humanserumalbumin als Testsubstanz verwandten. Dabei betonen sie besonders den unmittelbaren, starken und langen Effekt der i.v.-Applikation gegenüber einer i.p.-Gabe auf die RES-Blockade. In Gegensatz dazu hatten FIDANO et al. (206) nach i.p.-Injektionen bessere Resultate zu verzeichnen. Dabei halten sie den suppressiven Effekt einer ALS-Gabe von der durch sie induzierten Alteration der Kupfferschen Sternzellen abhängig. Auf Grund dieser Tatsache und der Bedeutung der Makrophagen bei Immunphänomenen halten es die Verfasser sogar für möglich, daß das ALS seine immunosuppressive Aktivität durch seine Antimakrophagenaktivität äußert.

Eine wichtiger Abwehrmechanismus gegen virale Infektionen ist das Interferon-System (122), das aus mehreren Komponenten mit Proteincharakter besteht. Diese werden nach erfolgter viraler Infektion oder durch andere Stimuli intrazellulär produziert und freigesetzt. Die bisher verfügbaren Ergebnisse zeigen allerdings, daß das Interferon selbst nicht direkt antiviral wirkt, sondern vielmehr in den Zellen die Bildung einer Substanz induziert, die die antivirale Aktivität vermittelt. Diese antivirale Komponente des Interferon-Systems hat wahrscheinlich eine Polypetid- oder Proteinstruktur (18). Eine wesentliche Rolle bei der Interferon-Produktion sollen dabei die Lymphozyten spielen (256). Wenn auch [illegible] et al. (117) nach ALS-Behandlung eine Reduktion des Interferontiters nicht beobachten konnten, so geschah das doch recht eindeutig in

den Experimenten von [illegible] (114) und BARTH et al. (25). Damit könnten zumindest bestimmte Beobachtungen über eine Abnahme der Resistenz gegenüber viralen Infektionen nach ALS-Gabe ihre Erklärung finden. Besondere Beachtung wäre unter diesem Aspekt auch den Ergebnissen über eine virale Induktion von Tumoren bei ALS-behandelten Tieren zuzumessen ([illegible]52, 141). Demgegenüber kommt es aber auch zu höheren Tumorraten nach Inokulation von Hela-Zellen (229), nach Immunisierung mit Sarkom 180 (74) und nach Implantation von Methylcholanthren (13, 15, 57, [illegible]) in ALS-behandelten Tieren als bei Kontrolltieren.

Interessant ist in diesem Zusammenhang die Hypothese von [illegible] (151, 152, 153) über die immunologische Deutung der Lymphomentstehung. Die Transplantation von allogenem Gewebe führt zu einer kontinuierlichen Antigenreizung des Empfängers. Die Unterdrückung der Immunabwehr z.B. mit ALS hat eine gewisse Hemmung bzw. Selektion der bei einer Antikörperbildung ablaufenden Zellproliferations- und Differenzierungsvorgänge zur Folge. Dem Antigenreiz steht somit eine zumindest partielle Blockierung der Antikörperbildung gegenüber, was eine Proliferation unreifer Zellelemente ohne nachfolgende normale Differenzierung zur Folge hat. Tatsächlich ist bis jetzt auch schon die Entstehung von malignen Geschwülsten bei 37 nierentransplantierten Patienten beschrieben worden, davon allerdings 21 epithelialen und 16 mesenchymalen Ursprungs (185).

Im Gegensatz zu einigen bisher erwähnten ALS-Wirkungen läßt sich der gegen die Lymphozyten gerichtete Effekt sehr gut mit der "graft-versus-host reaction" nachweisen. Die Übertragung immunologisch kompetenter Zellen in einen Organismus mit gestörter Immunabwehr führt dabei zu einer Reaktion gegen den-

selben. Mögliche Experimente lassen sich insofern variieren, als man einmal die Spendertiere mit ALS- behandelt, die zu injizierenden Zellen von vitro mit dem ALS in Kontakt bringt, oder den Rezipienten ALS injiziert. Je nach Wahl der Versuchsbedingungen wird es entweder zur Hemmung oder Förderung der "g-v-h reaction" kommen (4, 34, 58, 60, 144, 213).
Die Möglichkeit einer ALS-induzierten Hemmung der Bildung zirkulierender Antikörper hatte lange Zeit hypothetischen Charakter. Heute ist zumindest soviel erwiesen, daß eine ALS-Applikation, die vor dem Kontakt mit dem Antigen einsetzt, die Produktion von zirkulierenden Antikörpern hemmt oder wenigstens reduziert (20, 21, 24, 82, 125, 154, 165, 195, 196, 213, 226, 234, 236).
Von Bedeutung für die Kenntnis des Hemmungsmechanismus antilymphozytärer Sera sind in vitro-Versuche. Obwohl diese natürlich den Nachteil haben, aus dem komplexen Reaktionsgeschehen des Organismus herausgelöst betrachtet zu werden, brachten sie doch wertvolle Teilergebnisse. Zu nennen sind u.a. die Feststellung einer mitogenen Wirkung des ALS (69, 105, 108, 109, 119, 140, 213), dessen stimulierender Effekt auf die DNS-Synthese kultivierter Lymphknotenzellen (89), die Beobachtung fehlender numerischer oder struktureller Chromosomenveränderungen nach ALS-Gabe (85) und die veränderte Phytohämagglutinin (PHA) - Antwort von Thymus-, Milz-, Lymphknoten- und peripheren Blutlymphozyten ALS-behandelter Mäuse (207). Das Erscheinen einer 10mal größeren Eosinophilenzyste in Kulturen nach ALS-Stimulation als nach PHA-Gabe (119) harrt noch der Erklärung.
Für zukünftige Arbeiten wird jedoch der Induktion einer spezifischen Toleranz in adulten Individuen die größte Bedeutung

beigemessen werden müssen. Möglicherweise bietet sich mit dem gesteuerten Einsatz von ALS zusammen mit vitalen Antigen ein gangbarer Weg an. Tierexperimentelle Arbeiten berechtigen dabei zu einiger Hoffnung. So erreichten [illegible] et al. (3) mit zellfreien Antigenpräparationen aus rupturierten Milzzellen und [illegible] et al. (45) mit solchen aus Milz- und Leberextrakten unter ALS-Applikation beachtliche Resultate. Studien der Arbeitsgruppe um [illegible] (103, 251) mit zellulärem Antigen zeigen eindeutig, daß das ALS die Toleranzinduktion zwischen histoinkompatiblen Mäusen via intrathymische Zellapplikation (Milz, Leber) einzigartig fördert, daß die Wahl unterschiedlicher Injektionswelten synergistisch wirken kann und daß den Knochenmarkzellen eine markante tolerogene Kapazität innewohnt. Trotz dieser ermutigenden Anfänge ist es natürlich noch ein weiter Weg bis zur Erreichung der oben genannten Ziele.
Wie an anderer Stelle bereits mitgeteilt (127), war die Übernahme der ALS in klinische Therapieschemata mit großen Hoffnungen verbunden. Bis jetzt liegen Berichte über Therapieversuche bei chronischen Lymphadenosen (187, 245, 246), Knochenmarktransplantationen nach vorheriger ALS-Konditionierung (198, 226), Autoaggressionskrankheiten (93, 198, 199, 204, 240, 244) und Organtransplantationen vor (56, 150 230, 232, 233, 242). Die Möglichkeit der Beherrschung von Rejektionskrisen wird dabei von [illegible] und LAND (44) durchaus positiv beurteilt, während [illegible] und EVANS (157) zurückhaltender sind. Besonders günstig scheint die Anwendung von Antilymphozytenglobulin bei Organtransplantationen zu sein, wobei [illegible] et al. (230, 232) über beträchtliche Dosisreduzierungen von Standardimmunosuppressiva berichteten. Das ist natürlich bedeutsam hinsichtlich von Nebenwirkungen, wie z.B. Knochenmarkdepression und Leberschädigung.

2. Fragestellung

Nach dieser orientierenden Darstellung sollen zur Begründung der eigenen Fragestellung einige detaillierte Versuchsergebnisse erörtert werden, die in unserem Labor gewonnen wurden und auf denen die später zu schildernden Experimente fußen. Die unter dem Oberbegriff "Antilymphozytenseren" existierenden Sera stellen, je nach dem zur Immunisierung verwendeten Zellmaterial, eine heterogene Gruppe dar. Grundsätzlich muß dabei zwischen Antithymuszellenserum (ATS) und dem Antilymphozytenserum (ALS), d.h. einem Serum gegen Lymphozyten aus dem Ductus thoracicus, dem peripheren Blut, von Lymphknoten und der Milz, unterschieden werden.

Die von [illegible] und v. [illegible] (32) hergestellten und erprobten Kaninchenantimäuselymphknotenzellenseren (KALS) waren geeignet, die Überlebenszeit homologer Hauttransplantate bei Mäusen (A ——— C3H/He) signifikant zu verlängern. Sie betrug bei annähernd gleicher Dosierung, wobei die Verfasser auf die Wichtigkeit einer präoperativen Serumapplikation hinweisen, bei dem KALS I 43/45/ 46/53/53/57 und dem KALS II 50/50/50/53/53 Tage. Unbehandelte Kontrolltiere begannen ihr Transplantat nach 9 Tagen abzustoßen. Die nachfolgend mit einem Kaninchenantimäusethymuszellenserum (KATS) durchgeführten Versuche zeigten recht abweichende Ergebnisse (33). Dieses Serum mußte entsprechend der langen Grundimmunisierung als sogenanntes Hyperimmunserum angesprochen werden. Bei den damit erhaltenen Resultaten waren zwei Tatsachen auffällig. Erstens war bei einem verzögerten Rejektionsverlauf der Beginn der Transplantatabstoßung zeitlich übereinstimmend mit dem bei unbehandelten Kontrolltieren. Zweitens überlebten von insgesamt 47 mit diesem KATS behandelten Mäusen nur 25 die Serumapplikation. Damit

war dessen Wirksamkeit, trotz des negativen Effektes auf die Transplantatüberlebenszeit, nachgewiesen. Einen gänzlich anderen Verlauf zeitigte dagegen die Applikation mehrerer [illegible], die nach weniger Immunisierungsinjektionen gewonnen worden waren und somit als hyperimmunere anzusprechen sind. Hier kam es bei fehlender Mortalität ebenfalls zu erheblichen Verlängerungen der Transplantatüberlebenszeit (35).

Wesentliche Wirkungsunterschiede konnten die Verfasser (47) auch nach Applikation dieser Sera auf das Blutbild feststellen. So führte das hyperimmune [illegible] bereits nach einer einmaligen Injektion zu einer wesentlichen stärkeren Lymphopenie als das [illegible]. Während die [illegible]-Gabe jedoch von einer relativ schnell einsetzenden Granulozytose gefolgt war, entwickelte sich nach fünf [illegible]-Injektionen eine deutliche Granulopenie, die nur durch Dosisreduktion oder sogar Absetzen des Serums behoben werden konnte.

Ähnliche unterschiedliche Befunde waren auch nach Sektion der Tiere zu beobachten. Während Milz, Lymphknoten und Leber der [illegible]-behandelten Tiere normal erschienen, war der Thymus fast völlig reduziert (35). Eine alleinige [illegible]-Applikation hatte dagegen meist eine makroskopisch sichtbare Größenreduktion der Lymphknoten bei normalem Thymus zur Folge (35).

Eine weitere Bestätigung der unterschiedlichen Wirkung erhielten [illegible] und v. [illegible] (34) am Modell der "graft-versus-host reaction". Im Hinblick auf eine Förderung der "g-v-h reaction" stand dabei die Wirksamkeit des [illegible] weit vor der des [illegible]. Die diesen unterschiedlichen Reaktionen zugrunde liegenden Mechanismen sollen später diskutiert werden. Wesentlich erscheint jedoch aus den mitgeteilten Ergebnissen die Feststellung, daß wir bei einer immunosuppressiven Behandlung von Tumor

hinsichtlich der Wirkung zwischen ALS und hyper- und hypoimmunen ATS unterscheiden müssen.

Im wesentlichen basieren auf diesen Resultaten die eigenen Untersuchungen. Dabei galt es festzustellen, ob die im Kaninchen-Maus-System ermittelten Ergebnisse sich im Pferd-Hund-System reproduzieren lassen. Besondere Beachtung wurde dabei den antithymozytären Sera entgegengebracht, da eine mögliche letale Wirkung des hyperimmunen ATS auch bei den Hunden doch weitgehende Konsequenzen hätte, wobei besonders auf die klinische Applikation solcher Sera hinzuweisen wäre. Natürlich brachten wir darüberhinaus den Fragen eventueller Wirkungsunterschiede der einzelnen Sera bzw. ihrer Globuline die entsprechende Bedeutung entgegen. Im einzelnen ergab sich daraus folgende Aufgabenstellung:

a) Herstellung eines Pferd-anti-Hundelymphozytenserums (PAHLS),
b) Herstellung eines hypoimmunen Pferd-anti-Hundethymuszellenserums (PAHTS I),
c) Herstellung eines hyperimmunen Pferd-anti-Hundethymuszellenserums (PAHTS II),
d) Fällung und Isolierung der Globuline aus allen drei Sera (PAHLG, PAHTG I, PAHTG II),
e) Ermittlung eventueller unterschiedlicher Reaktionen nach Applikation der Vollsera und der Globuline,
f) Ermittlung der Hauthomotransplantatüberlebenszeit bei Hunden nach Applikation der Vollsera und der Globuline,
g) Ermittlung der Wirkungen von Vollsera und Globulinen auf das Blutbild der Hunde,
h) Ermittlung der Wirkung von Vollsera und Globulinen auf die Histologie der lymphoiden Organe der Hunde.

3. Material und Methode

3.1 Gewinnung des Immunisierungsgutes

3.1.1 Lymphozytenisolierung aus dem peripheren Hundeblut

Die angewandte Methode beruht im wesentlichen auf dem von RABINOWITZ (205, 206) und [illegible] und FRICK (202) vorgelegten Material.

Als Ausgangsmaterial dienten Frischblutkonserven. Dafür wurden mit "Gr-neutral" (VEB Waschmittelwerk Genthin) gewaschene und heißluftsterilisierte Blutkonservenflaschen mit je 140ml Infukoll 6% (VEB Serum-Werk Bernburg) und 60ml ACD (VEB Arzneimittelwerk Naumburg) gefüllt und anschließend autoklaviert. Nach Erzeugung eines entsprechenden Unterdruckes mit einer Wasserstrahlpumpe waren sie gebrauchsfertig. Die Füllung der Konservenflaschen geschah im geschlossenen System nach Punktion der Vena jugularis des Hundes. Günstig erwies sich dabei die vorherige Sedierung der Tiere mit Combelen® ("Bayer" Leverkusen). Pro Hund (mittleres Gewicht der Tiere zwischen 20 - 25kg) wurden dabei durchschnittlich 200ml Blut entnommen, was sie gut vertrugen. Die fertigen Blutkonserven blieben danach für zwei Stunden bei Zimmertemperatur stehen, um eine ausreichende Sedimentation zu gewährleisten.

In der Zwischenzeit wurden die notwendigen Trennsäulen vorbereitet. Die Säulen selbst bestehen aus einem Glasrohr mit umgebendem Glasmantel, der mit einem Füll- und einem Auslaufstutzen versehen ist. Günstigerweise erfolgt die Stopfung der Trennsäulen mit Leukozytendederonfiltermaterial ("Original Hartung") einen Tag vorher. Die Vorbereitung des Dederongewebes geschieht durch Waschen in Ditalan FO (VEB Fettchemie Karl-Marx-Stadt), anschließendem Spülen in Aqua dest. et bidest. und Extraktion im Soxhlet. Die so präparierten Säulen wurden

dampfsterilisiert. Vor Versuchsbeginn erfolgte der Anschluß der Säulen an einem Thermostaten. Es schloß sich die Füllung der Säulen mit Hanks'scher Lösung (Institut für Seuchenschutz Berlin-Weißensee) an.

Aus den inzwischen sedimentierten Blutkonserven wurde nun der an weißen Blutkörperchen reiche Überstand steril in eine neue Konservenflasche abgesaugt und zentrifugiert (20min, 4°C, 800-1000 U/min). Davon saugten wir wieder den Überstand ab und zentrifugierten (20min, 4°C, 2200 U/min) ihn thrombozytenfrei. Das verbleibende und an weißen Blutkörperchen reiche Sediment wurde durch leichtes Schütteln resuspendiert und mit 1/40 M $CaCl_2$ und Heparin "Richter" versetzt. Mit dieser Suspension beschickten wir anschließend die Trennsäulen, wobei analog der Einlaufgeschwindigkeit die Hanks'sche Lösung abtropfte. Diesem Vorgang schloß sich eine halbstündige Inkubation bei 37°C an. Danach erfolgte das Ausspülen der Säulen mit dem inzwischen thrombozytenfreien autologen Serum, dem ebenfalls Heparin "Richter" und 1/40 M $CaCl_2$ zugesetzt worden war. Die ausgespülte lymphozytenreiche Suspension zentrifugierten wir erneut (20min, 4°C, 1000 U/min) und verwarfen anschließend den Überstand. Das aufgeschüttelte Sediment wurde nun im Verhältnis 1 : 3 0,87%iges NH_4Cl, das effektiver als 0,83%iges sein soll (203), zur Hämolyse zugesetzt. Nach abschließender Zentrifugation wurde das Sediment dreimal mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen und endlich in ca. 15 - 20ml 0,9%igem NaCl injektionsfertig resuspendiert.

Die Prüfung der Zellreinheit geschah unter dem Phasenkontrastmikroskop, die Feststellung der Vitalität mit dem Trypanblautest und die Bestimmung der Zellausbeute mittels Zählkammerzählung.

Aus durchschnittlich 1100ml Hundeblut wurden zwischen 2 x 10^8 und 2 x 10^9 weiße Blutkörperchen gewonnen. Der Anteil der Lymphozyten betrug dabei im Mittel 96%.

3.1.2 Gewinnung der Thymuszellsuspensionen

Als Thymusspender dienten Hunde im Alter von 1 Woche bis zu 1/2 Jahr. Nach Tötung der Tiere mittels Genickschlag bzw. Entbluten durch Herzpunktion wurden die Thymusdrüsen steril entnommen, in eingekühlte Hanks'sche Lösung gebracht und das anhaftende Bindegewebe entfernt. Die Aufarbeitung der vorher zerkleinerten Thymi erfolgte im Glashomogenisator nach POTTER. Die anfallenden Zellen wurden wieder in Hanks'scher Lösung resuspendiert.

Den Zellgehalt ermittelten wir auch hierbei durch Kammerzählung, die Vitalität mittels Trypanblaufärbung. Auf Objektträgerausstrichen war nur eine geringe Kontamination mit Erythrozyten zu sehen, Granulozyten fehlten in den meisten Fällen.

Eine Bestimmung der Zellausbeute pro Thymus erfolgte nicht, da die Aufarbeitung von jeweils nur einzelnen Thymusstücken eine ausreichende Zellzahl ergab. Ein größerer Zellgehalt der Thymi Neugeborener gegenüber älteren Tieren konnte natürlich festgestellt werden. Der Anteil des Fettgewebes verhielt sich reziprok.

3.2 Herstellung der Antisera

3.2.1 Immunisierungsmodus

Als Immunisierungstiere dienten für das FAHLO eine fünfjährige Stute und für die FAHEY ein zehnjähriger Wallach. Eine tierärztliche und serologische Untersuchung der Pferde vor Versuchsbeginn ergaben deren völlige Eignung als Serumspender. Sämtliche Injektionen erfolgten intravenös durch Punktion der V. jugularis. Anaphylaktische Reaktionen waren nicht zu beob-

achten.

Tab. 1 und 2 geben Auskunft über Immunisierungsdauer, Zellzahl pro Injektion, Blutentnahmen und benötigtes Konservenblut.

Tab. 1: Immunisierungsschema zur Herstellung des FAHLS

Tag	Konserven-blut (ml)	Injizierte weiße Blutkörperchen	davon vitale Lymphocyten	Blutentnahme
0				5ltr. für Normalserum
1	1100	$1,82 \times 10^9$	$1,77 \times 10^9$	
7	1100	$1,63 \times 10^9$	$1,55 \times 10^9$	
14	1100	$0,75 \times 10^9$	$0,7 \times 10^9$	
21	1150	$0,2 \times 10^9$	$0,19 \times 10^9$	300ml pree inj. zur Testung
28	1000	$0,98 \times 10^9$	$0,94 \times 10^9$	
35	1200	$1,05 \times 10^9$	$1,0 \times 10^9$	300ml pree inj. zur Testung
42	1200	$1,4 \times 10^9$	$1,7 \times 10^9$	300ml pree inj. zur Testung
49	1200	$1,5 \times 10^9$	$1,4 \times 10^9$	
56	1100	$0,84 \times 10^9$	$0,8 \times 10^9$	
64				5 Liter
66				5 Liter
69				5 Liter

Aus den 15 Litern Blut von den Tagen 64/66/69 wurde das FAHLS gewonnen.

Tab. 2: Immunisierungsschema zur Herstellung der [illegible]

Tag	Injektionsdosis vitale Thymozyten	Injektionsdosis tote Thymozyten	Blutentnahme (ltr.)
1	$6{,}15 \times 10^9$	$1{,}5 \times 10^9$	
6	$4{,}4 \times 10^9$	$1{,}3 \times 10^9$	
13	$2{,}4 \times 10^9$	$2{,}1 \times 10^9$	
20	$5{,}3 \times 10^9$	$1{,}3 \times 10^9$	
26			5
28			5
30			5
34	$4{,}0 \times 10^9$	$1{,}5 \times 10^9$	
41	$4{,}05 \times 10^9$	$1{,}05 \times 10^9$	
47	$4{,}4 \times 10^9$	$0{,}88 \times 10^9$	
55	$2{,}3 \times 10^9$	$0{,}44 \times 10^9$	
62	$3{,}78 \times 10^9$	$0{,}72 \times 10^9$	
68			5
70			5
72			5

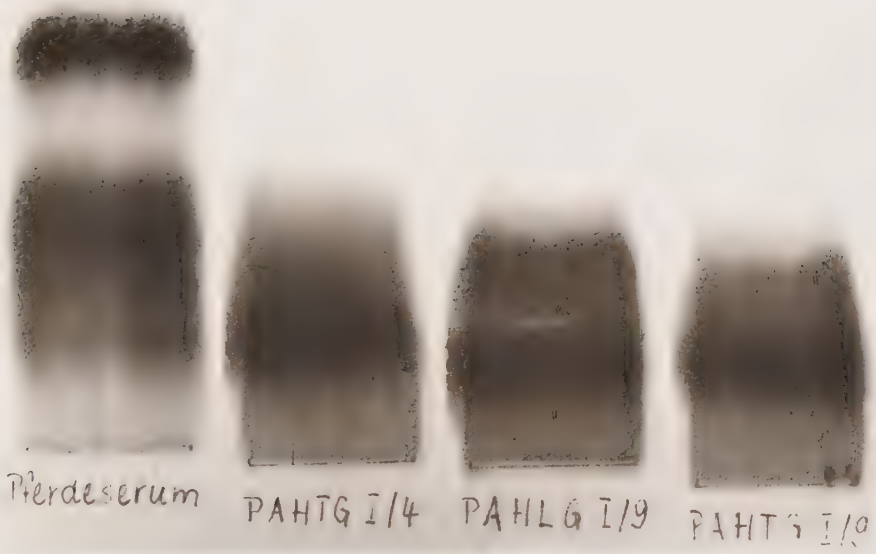
Das an den Tagen 26/28/30 entnommene Blut diente zur Bereitung des hypoimmunen [illegible] I und das von den Tagen 68/70/72 zur Herstellung des hyperimmunen [illegible] II.

3.2.2 Bereitung der Antisera

Das in jeweils sterile Rotterieglaser abgenommene Blut wurde über Nacht im Kühlschrank deponiert. Zur Förderung der Sedimentation und Kompression des Blutkuchens benutzten wir speziell aus nichtrostendem Stahl angefertigte Gewichte, die, mit Löchern versehen und im Durchmesser wenig kleiner als der der Gläser, auf das Blut gelegt wurden. Am nächsten Tag füllten wir das überstehende Serum in sterile Konservenflaschen ab und entfernten etwaige Erythrozytenverunreinigungen mittels Zentrifugation. Es schloß sich die Dekomplementierung bei 56°C an. Zur Entfernung der Hämagglutinine wurde das Serum danach gegen Humanerythrozyten im Verhältnis 1 : 1 (bzw. 1 : 0,75) absorbiert. Die Bereitung der dazu notwendigen Blutkonserven ist unter Punkt 3.1.1 beschrieben worden. Nach Zentrifugation derselben wurde der Überstand verworfen und die Erythrozyten dreimal mit 0,9%igem NaCl gewaschen. Zur Absorption wurden Serum und Erythrozyten im oben genannten Verhältnis gemischt und 30min. bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Das nach erneuter Zentrifugation gewonnene Antiserum filtrierten wir mittels G3-Nutsche steril. Die Aufbewahrung bis zur Verwendung erfolgte bei -20°C.

Ein Teil des Serums wurde zur Fällung und Isolierung der Globuline verwandt. Der Erfolg dieses Verfahrens (Ammoniumsulfatfällung mit anschließender Dialyse gegen isotone Kochsalzlösung) wird durch die Abb. 1 und 2 dokumentiert. In der Papierelektrophorese (Abb. 1) ist das Fehlen der Albuminfraktion deutlich erkennbar. Die Immunoelektrophorese (Abb. 2) zeigt bei allen drei Seren deutliche Präzipitationslinien im Immunoglobulin- und β-Globulinbereich, inkonstant im α_2-Globulinbereich. Auch diese Globulinlösungen wurden sterilfiltriert und bei -20°C aufbewahrt.

Abb. 1 Auftrennung der einzelnen Sera mittels Papierelektrophorese



1 2 3 4

Erklärung: 1 = Normalpferdeserum
2 = PAHTG I
3 = PAHLG
4 = PAHTG II

Abb. 2 Auftrennung der einzelnen Sera mittels Immunoelektrophorese

3

4

Erklärung:

3: oben: Normalpferdeserum

unten: PAHLG

4: oben: PAHTG I

unten: PAHTG II

3.3 In vitro-Testung

3.3.1 Hämagglutination

Zweck dieser Untersuchung war die Feststellung eines Erfolges bzw. Mißerfolges der oben beschriebenen Absorption.
Die Arbeitsgänge umfaßten dabei die Herstellung geometrischer Serumverdünnungsreihen nebst einer Kochsalzkontrolle von je 0,5ml pro Röhrchen, die Zugabe von je 0,5ml einer 3,2%igen Erythrozytensuspension in jedes Röhrchen, eine 90 minütige Inkubation bei 37°C und schließlich die Auswertung unter dem Mikroskop.

3.3.2 Lymphagglutination

Zweck dieser Untersuchung war die Feststellung agglutinierender Antikörper in den hergestellten Sera in vitro. Alle Sera wurden gegen Lymphknotenlymphozyten und Thymozyten getestet. Die erforderlichen Arbeitsgänge gleichen denen unter 3.3.1 beschriebenen, nur daß jedes Röhrchen entweder mit 0,7 - 2,7 x 10^7 Thymozyten bzw. 0,5 - 5 x 10^6 Lymphknotenlymphozyten beschickt wurde.

3.4 In vivo-Testung

3.4.1 Applikationsmodus

Sämtliche Injektionen verabreichten wir intravenös. Folgende Dosierung kam zu Anwendung:
a) 1ml Serum/kg Körpergewicht oder
b) 65mg Globulin/kg Körpergewicht.
Alle Tiere erhielten jeweils 6 präoperative und 4 postoperative Injektionen, die täglich, allerdings mit Ausnahme von Sonnabend und Sonntag, verabfolgt wurden.

3.4.2 Zytologie und Histologie

Vor jeder Injektion erfolgte eine Blutentnahme zur Bestimmung der Gesamtleukozytenzahl. Gleichzeitig wurde ein Objektträgerausstrich angefertigt und nach May-Grünwald-Giemsa gefärbt. Pro Präparat differenzierten wir 100 Zellen. Aus dieser Relativwerten und der Gesamtleukozytenzahl wurden die absoluten Werte für die einzelnen Zellformen errechnet.
Die histologische Auswertung umfaßte HE-gefärbte Schnitte von Thymus-, Lymphknoten-, Milz- und Lebergewebe von behandelten und unbehandelten Tieren.

3.4.3 Vollhauthomotransplantation

Die Hauttransplantation wurde zwischen gleichgeschlechtlichen und ungefähr gleichgewichtigen Bastardhunden vorgenommen. Combelen® diente zur Prämedikation (0,3ml s.c.). Die Operation führten wir unter einer Hexobarbitalnarkose (Hexobarbital-Natrium AWD) durch. Das am Vortage rasierte Operationsgebiet wurde jodiert und mit sterilen Schlitztüchern abgedeckt. Nach dem Schneiden der ca. 4,5 x 4,5cm großen Hauttransplantate und deren stumpfer Trennung blieben sie so lange unter Kochsalzberieselung auf dem Wundbett liegen, bis bei einem gleichzeitig narkotisierten Hund ein ähnlicher Hautlappen präpariert war. Jetzt erfolgte der Austausch beider Transplantate, die anschließend subcutan mit Catgut und cutan mit Seide fixiert wurden. Zum Schutz des Operationsgebietes legten wir den Hunden einen Verband an, der zum ersten Male nach 4 Tagen und dann täglich zur Transplantatkontrolle gewechselt wurde.
Die postoperative Behandlung erstreckte sich in einer antibiotischen Abschirmung. Die ersten 3 Tage bekam jeder Hund 0,5g Streptomycin + 200000 IE Jenacillin A i.m., dann 5 Tage nur 200000 IE Jenacillin A i.m.

4. Ergebnisse

4.1 In vitro-Testung

Die Resultate dieser Testung sind in den Tab. 3 und 4 zusammenfassend dargestellt. Dabei gibt die Titerangabe den reziproken Wert der letzten Verdünnungsstufe an, die noch agglutinierende Aktivitäten aufwies.

Tab. 3 Resultate der in vitro-Testung (Agglutinationstest) von PANTS I und PANTS II

Serumart	Zellart		
	Lymphozyten	Thymozyten	Erythrozyten
PANTS I (nicht absorbiert)			256
PANTS I (absorbiert)	512	1024	16
PANTS II (nicht absorbiert)			2048
PANTS II (absorbiert)	1024	2048	16
PANTG II	1024	2048	

Aus Tab. 3 wird deutlich, daß der agglutinierende Effekt dieser Sera gegen Thymozyten größer als gegen Lymphozyten ist, obwohl sich die Differenz nur auf eine Titerstufe erstreckt. Von der 5. bis zur 9. Immunisierungsinjektion fand lediglich ein Titeranstieg um eine Stufe statt. Die Absorption der Sera gegen Hundeerythrozyten hatte einen gut sichtbaren Erfolg.

Trotzdem sind die hohen Hämagglutinationstiter vor der Absorption von Interesse, wenn man die geringe Kontamination des Immunisierungsgutes mit Erythrozyten bedenkt.

Tab. 4 Nachweis agglutinierender Aktivitäten verschiedener Chargen eines FAHLS mit dem in vitro-Agglutinationstest

Serumart	Zellart		
	Lymphozyten	Thymozyten	Erythrozyten
FAHLS (3) (absorbiert)	512	256	
FAHLS (5) (absorbiert)	1024	256	
FAHLS (6) (nicht absorbiert)			2048
FAHLS (6) (absorbiert)	1024	256	32
FAHLS (9) (nicht absorbiert)			2048
FAHLS (9) (absorbiert)	1024	512	32
FAHTG (9)	1024	512	

Erklärung: Die hinter der Serumart in Klammern stehenden Zahlen geben die Anzahl der Immunisierungsinjektionen an, nach denen das entsprechende Antilymphozytenserum gewonnen wurde.

Aus Tab. 4 wird ersichtlich, daß der agglutinierende Effekt

des PAHLE gegen Lymphozyten etwas stärker als gegen Thymozyten ist, der zu verzeichnende Titeranstieg von der 4. bis zur 9. Immunisierungsinjektion gering war, nach der 5. Immunisierungsinjektion kein Titeranstieg bis zur 9. Injektion beim Agglutinationstest gegen Lymphozyten mehr erfolgte und der Titer gegen Thymozyten nach konstanten Werten zwischen der 5. und 6. Injektion nur um eine Stufe stieg. Die Absorption war auch hier erfolgreich.

4.2 In vivo-Testung

4.2.1 Blutbilduntersuchungen

Die Blutuntersuchungen fanden stets vor jeder Injektion, d.h. also meist ca. 24 Stunden nach der letzten Injektion statt. Es wurde darauf geachtet, daß die Fütterung der Hunde erst im Anschluß an die Blutentnahme erfolgte, um Fehler durch die nach der Fütterung auftretende Verdauungsleukozytose, die dabei ausschließlich die Neutrophilen betrifft (214), zu vermeiden. Die Normalwerte (= Ausgangswerte) sind in Tab. 5 zusammengefaßt. Sie stellen Mittelwerte der Untersuchungsergebnisse von 33 Hunden dar.

Tab. 5 Durchschnittliche Zellzahl/mm³ von 33 unbehandelten Hunden

Zellart	Mittelwert (n = 33)	Standardabweichung
Gesamtleukozytenzahl	10 385	4 063
Neutrophile Granulozyten	6 706	3 511
DAVON stabkernige u. jugendliche neutrophile Granulozyten	659	452

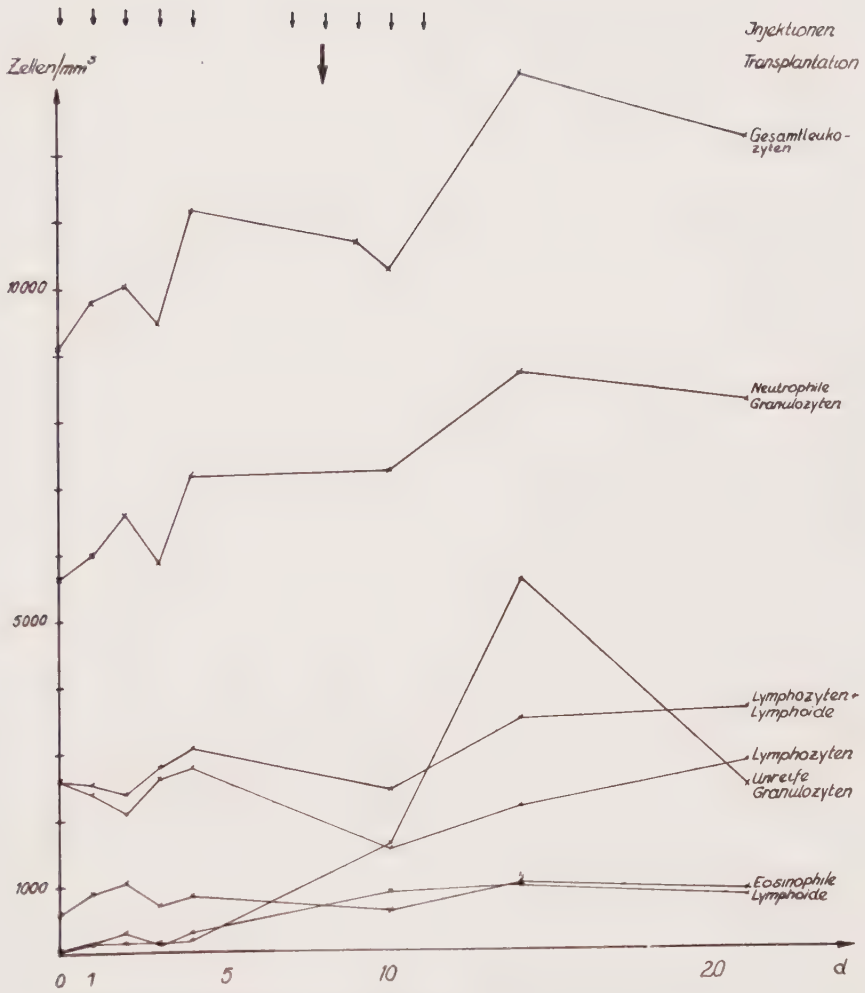
Fortsetzung der Tab. 5

Eosinophile Granulozyten	856	650
Lymphozyten	2 257	626
Lymphoide Zellen	472	443

Der Anteil der basophilen Granulozyten und Monozyten war konstant äußerst gering, so daß eine besondere Berücksichtigung nicht erforderlich schien, jedoch die geringen zahlenmäßigen Abweichungen in Tab. 5 erklären. Auffallend ist die relativ hohe Zahl der Gesamtleukozyten, die vermutlich ursächlich durch die nicht optimale Haltung der Tiere bedingt ist. Der Anteil der Jugendlichen und Stabkernigen spricht dafür. Zum anderen muß man bei der Beurteilung der Standardabweichung natürlich auch die relativ kleine Grundgesamtheit in Betracht ziehen. Der Anteil der Eosinophilen ist für Hunde charakteristisch groß. Die Lymphozytenwerte sind durchaus als im Normbereich befindlich zu betrachten. Interessant ist das Vorkommen lymphoider Zellen auch normalerweise beim Hund.

Abb. 3 (S. 29) demonstriert die Blutbildveränderungen, die nach Applikation eines Pferdenormalserums zu Vergleichszwecken gewonnen wurden. Dabei zeigten sich in den ersten 10 Tagen nach Beginn der i.v.-Injektion keine wesentlichen Veränderungen im Blutbild. Eine Ausnahme bildet das leichte Ansteigen der lymphoiden Zellformen. Später war eine mäßige Leukozytose zu beobachten, die durch eine Linksverschiebung bedingt war. Da wir eine Infektion ausschließen konnten, mußte dieser Befund auf die Applikation des Fremdserums zurückzuführen sein, zumal der Allgemeinzustand der Hunde zu dieser Zeit reduziert war.

Abb. 3

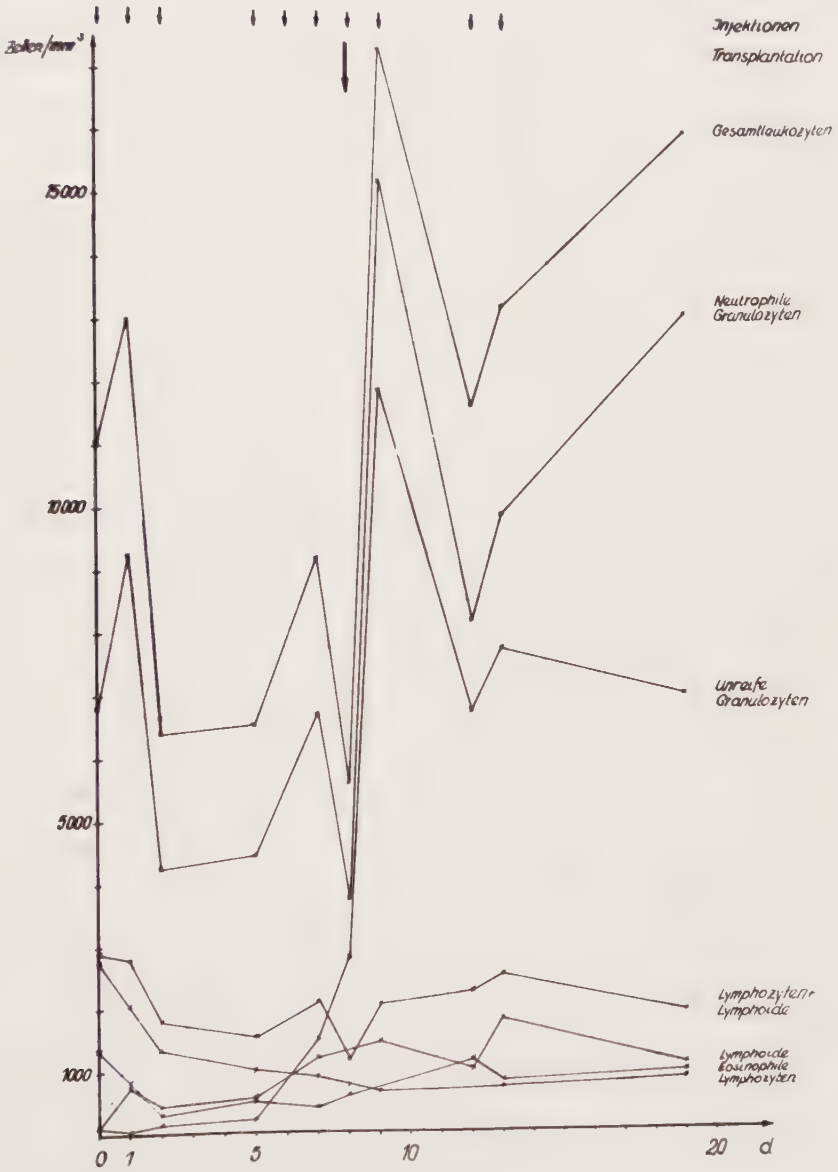


Blutbildveränderungen nach Applikation eines Pferdenormalserums

Abb. 4 (S. 30) vermittelt einen Eindruck von den Blutbildveränderungen nach Applikation des PANLS. Bereits nach der 1. Injektion kam es zu einem starken Abfall der Lymphozyten. Diese Lymphopenie konnte auch noch 10 Tage nach Beendigung der Serumapplikation beobachtet werden. Interessant erscheint uns eine nach der zweiten Injektion einsetzende Neutropenie, die dann allerdings durch eine starke Zunahme der Stabkernigen und

Jugendlichen in der postoperativen Phase kompensiert und überkompensiert wird und so noch längere Zeit zu beobachten war. Vermutlich ist diese Neutropenie auf im Serum befindliche antigranulozytäre Antikörper zurückzuführen. Vom 5. Tag an nach Injektionsbeginn war die Zunahme lymphoider Zellformen auffällig.

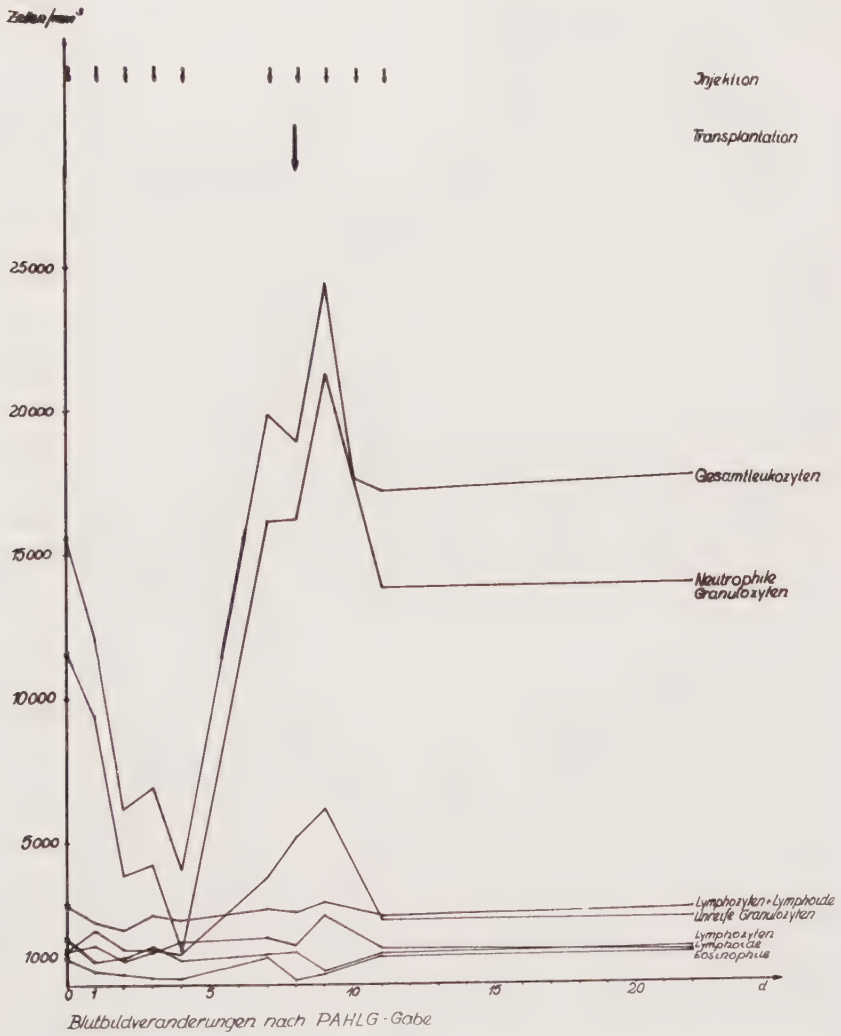
Abb. 4



Blutbildveränderungen nach PAHLS Gabe

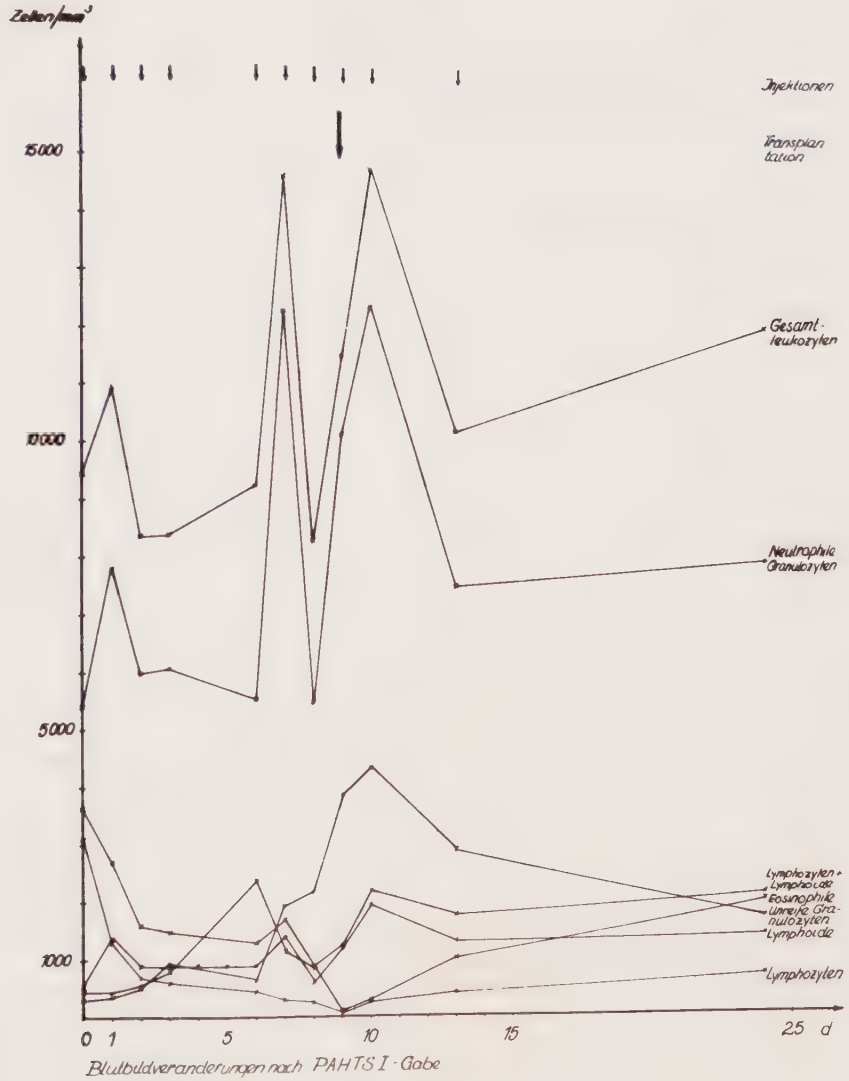
Wie aus Abb. 5 ersichtlich wird, boten sich nach Application des PAHLG im Vergleich zu der des PAHLG (s.Abb. 4) keine wesentlichen Veränderungen an. Bei einer allerdings etwas stärkeren postoperativen Neutrophilie war die Beteiligung der Jugendlichen und Stabkernigen geringer. Ein Abfall der Lymphozyten nach der 1. Injektion war auch hier deutlich erkennbar.

Abb. 5



Blutbildveränderungen nach PAHLG-Gabe

Abb. 6

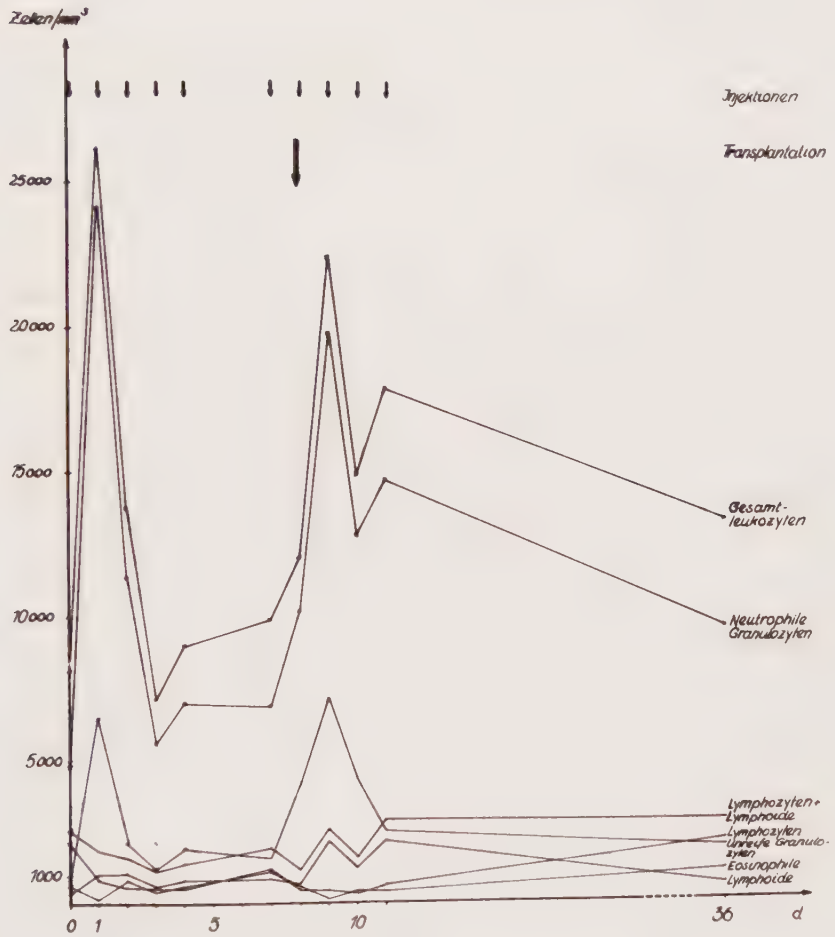


Blutbildveränderungen nach PAHTS I-Gabe

Auch das nach 4 Immunisierungsinjektionen gewonnene hyperimmune PAHTS I (Abb. 6) bewirkte bereits nach der 1. i.v.-Injektion einen ausgeprägten Lymphozytenabfall. Diese Lymphopenie war noch 12 Tage nach dem Absetzen der Serumapplikation deutlich erkennbar. Bemerkenswert scheint die hier eintretende Leukozytose, hinter der sich eine Neutrophilie verbirgt und an der

vom 6. Tag an Stabkernige und Jugendliche in stärkerem Maße beteiligt sind. Vom gleichen Zeitpunkt an treten vermehrt lymphoide Zellen im peripheren Blut auf.

Abb. 7



Blutbildveränderungen nach PAHTG I - Gabe

Das zahlenmäßige Verhalten der Zellen des peripheren Blutes nach PAHTG I - Applikation (Abb. 7) war vergleichbar mit dem

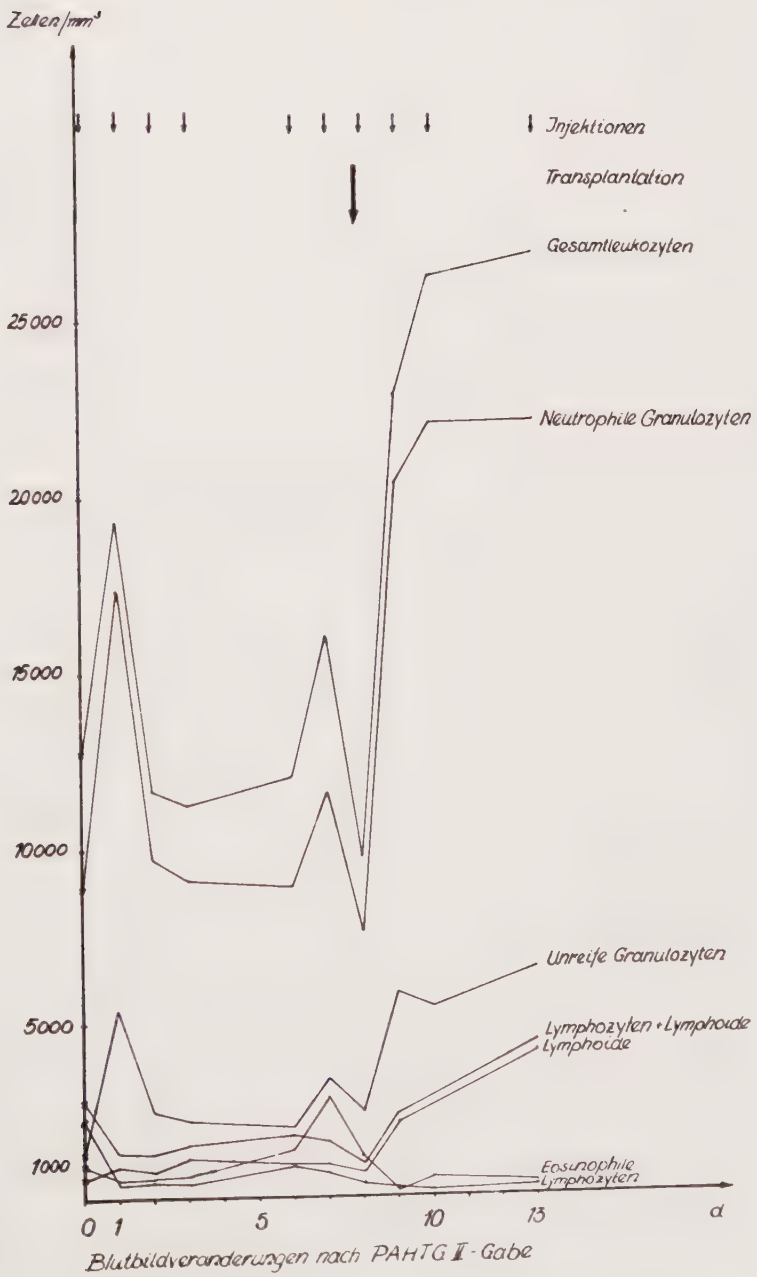
nach PAHTS I - Gabe (Abb. 6). Lymphopenie mit begleitender Neutrophilie, die wiederum besonders nach der 1. Injektion und in der postoperativen Phase zu beobachten war, kennzeichneten den Verlauf. Das vermehrte Auftreten lymphoider Zellen vom 7. Tag an war auch hier ein konstanter Befund.

Abb. 8

Blutbildveränderungen nach PAHTS II - Gabe

Die Injektion des hyperimmunen Antithymusserums (Abb. 8), das nach 9 Immunisierungsinjektionen gewonnen worden war, bewirkte neben dem charakteristischen Abfall der Lymphozyten eine Neutrophilie mit deutlicher Linksverschiebung vom 7. Tag an und ein Ansteigen der lymphoiden Zellen vom 8. Tag an.

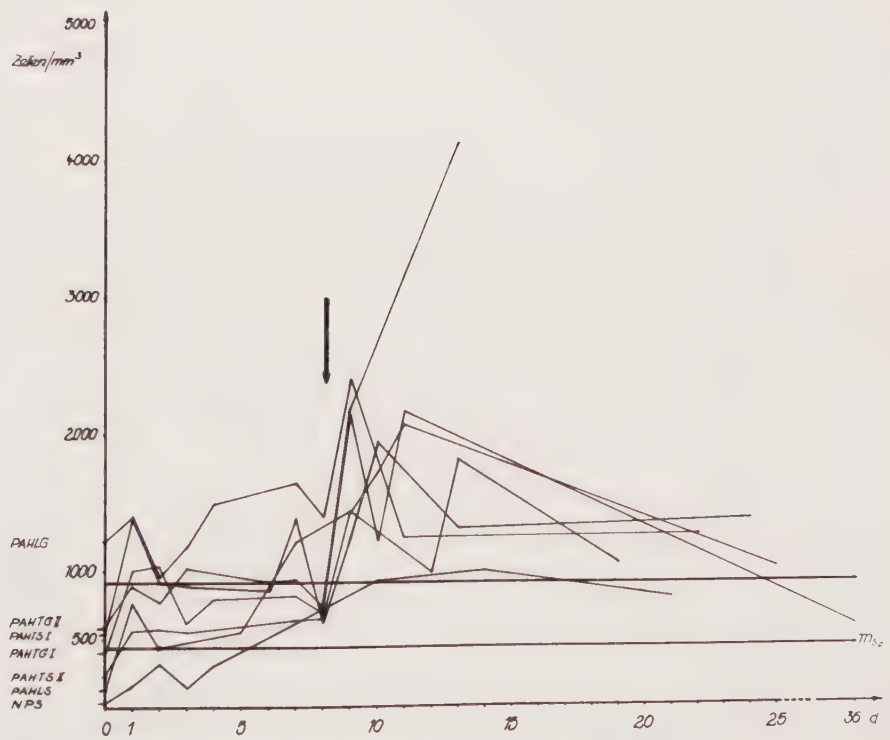
Abb. 9



Blutbildveränderungen nach PAHTG II-Gabe

Im wesentlichen treffen für die Blutbildveränderungen nach PAHTG II - Injektion (Abb. 9) die gleichen Bemerkungen zu, wie sie bereits bei Abb. 8 (PAHTG II) gemacht worden sind. Zu beachten ist auch hier das verstärkte Auftreten lymphoider Zellen im peripheren Blut nach dem 8. Tag. Zum Zeitpunkt der letzten Injektion betrugen sie hier das 15fache der Zahl der kleinen Lymphozyten.

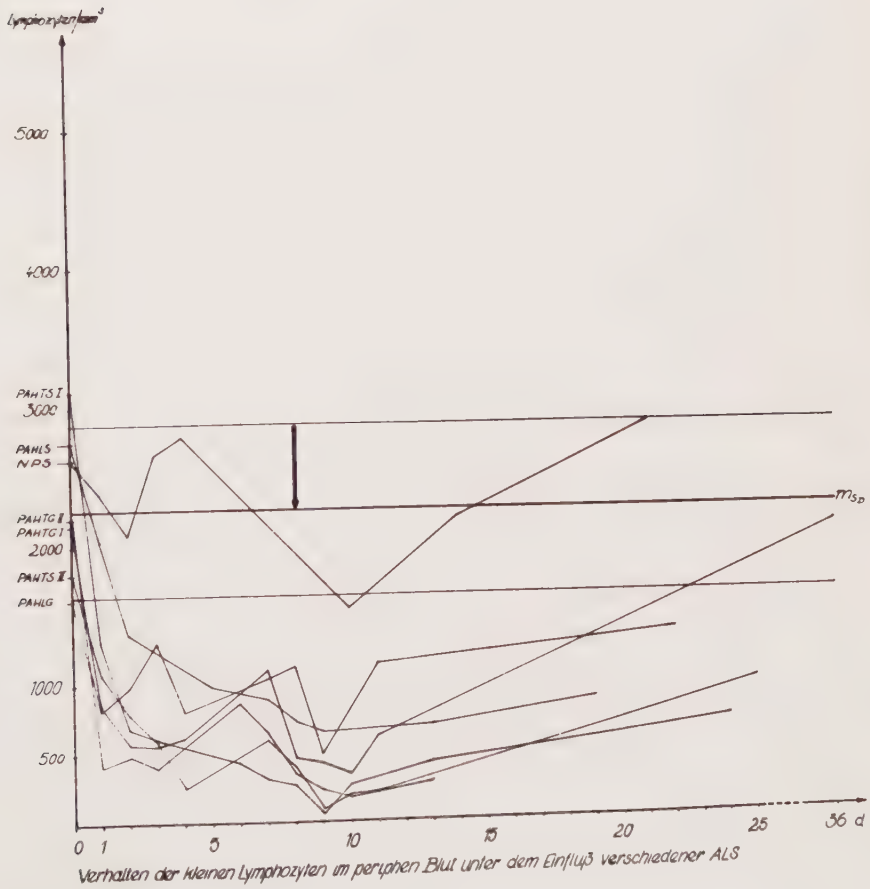
Abb. 10



Verhalten der lymphoiden Zellen im peripheren Blut unter dem Einfluß verschiedener ALS

Abb. 10 zeigt noch einmal deutlich den Effekt der einzelnen Sera auf das zahlenmäßige Verhalten der lymphoiden Zellen im peripheren Blut. Während nach Normalpferdeserumgabe nur ein dezenter Anstieg dieser Zellform zu verzeichnen war, kam es nach Applikation aller anderen Sera konstant um den 6. - 8. Tag z.T. zu erheblichen Zunahmen der Zahlen lymphoider Zellen. Selbst ungefähr 2 Wochen nach dem Absetzen der Injektionen waren die Werte noch nicht wieder im Bereich der Norm.

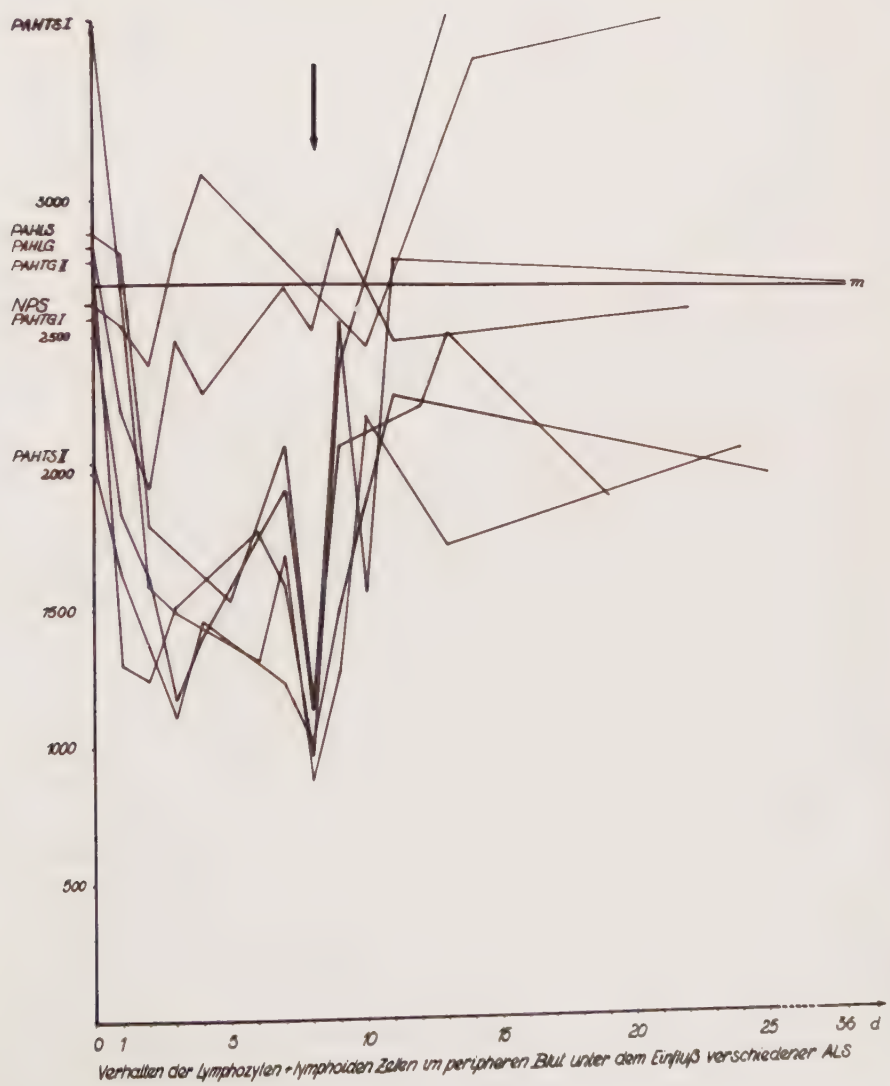
Abb. 11



Verhalten der kleinen Lymphozyten im peripheren Blut unter dem Einfluß verschiedener ALS

Abb. 11 vermittelt einen Eindruck von dem lymphopenischen Effekt der applizierten Sera. Charakteristisch ist dabei der starke Abfall der Zahl der zirkulierenden kleinen Lymphozyten bereits nach der 1. Injektion. Dieser wurde gesamtmäßig durch die weiteren Gaben verstärkt, so daß wir am 3. Tag nach Injektionsbeginn die tiefsten Lymphozytenwerte bei allen Gruppen fanden. Trotzdem zeichnete sich ein ausgeprägterer lymphopenischer Effekt der beiden Antithymusseren gegenüber dem PAHLS ab.

Abb. 12



Verhalten der lymphozylen + lymphoiden Zellen im peripheren Blut unter dem Einfluß verschiedener ALS

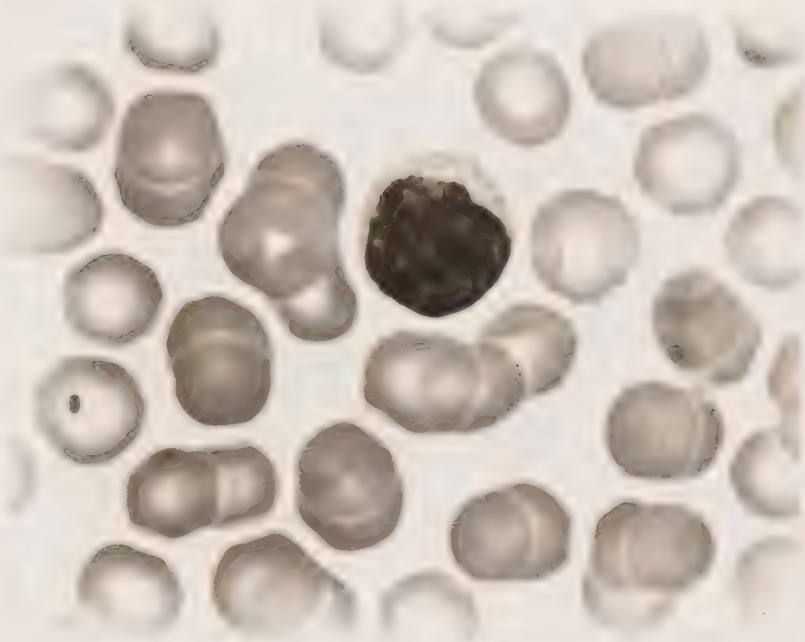
Selbst bei einer Dezimierung der Zahlen der kleinen Lymphozyten und der sicherlich von ihnen abzuleitenden lymphoiden Zellen (Abb. 12) bleiben die lymphopenischen Bilder zumindest für den Zeitraum der Antiserumapplikation bestehen. Mit dem zahlenmäßigen Anwachsen der lymphoiden Zellen wurde dieser Effekt später zum Teil kompensiert. In Anbetracht der Erzeugung erhöhter Parameter für deren Funktion scheint daher die ständige Blutbildkontrolle eine unerläßliche Hilfe für den mit ALS Arbeitenden.

Für eine gute Verständigung scheint eine kurze Definition der von uns als "lymphoide Zellen" bezeichneten Blutelemente notwendig. Neben den typischen kleinen Lymphozyten tauchen auch normalerweise (s. Tab. 5) im peripheren Blut Zellen zu einem kleinen Prozentsatz auf, die auf Grund ihrer Morphologie von den ersteren abgegrenztwerden müssen, obwohl sicherlich bestimmte Beziehungen zwischen beiden existieren. Prinzipiell haben wir alle Zellen als "lymphoid" bezeichnet, die folgende morphologische Charakteristika aufwiesen:

a) Vergrößerung des Kerndurchmessers gegenüber den Lymphozyten,
b) eine gewisse Kernpolymorphie,
c) Auflockerung des Chromatins,
d) scholliger Zerfall des sonst recht kompakten Chromatins,
e) z.T. Hervortreten der Nukleoden,
f) Vergrößerung des Plasmasaumes,
g) Zunahme der Plasmabasophilie,
h) inkonstant perinukleäre Aufhellungen,
i) Vakuolenbildung im Plasma,
j) gelegentlich Ausstülpungen der Zellmembran.

Die Abb. 13, 14, und 15 vermitteln einen Eindruck von der Morphologie dieser Zellen.

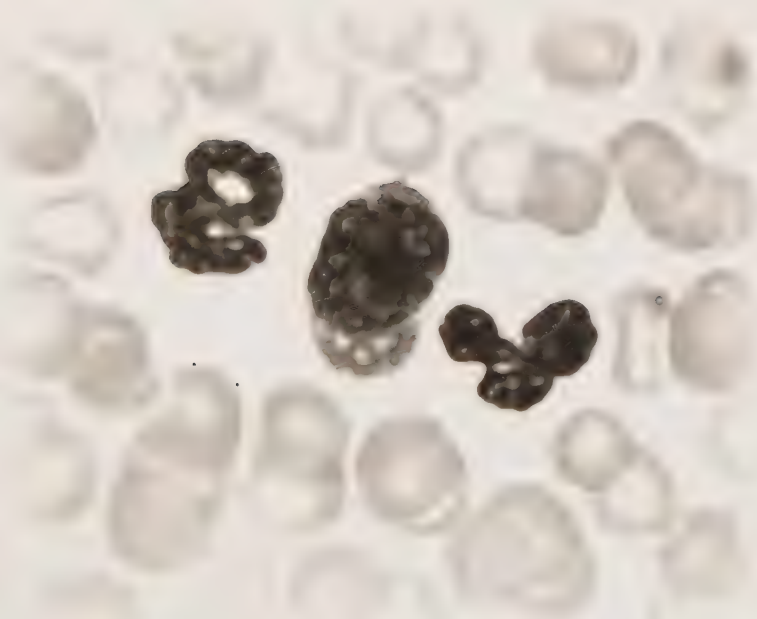
Abb. 13



Färbung: May-Grünwald-Giemsa

Vergrößerung: 2160x

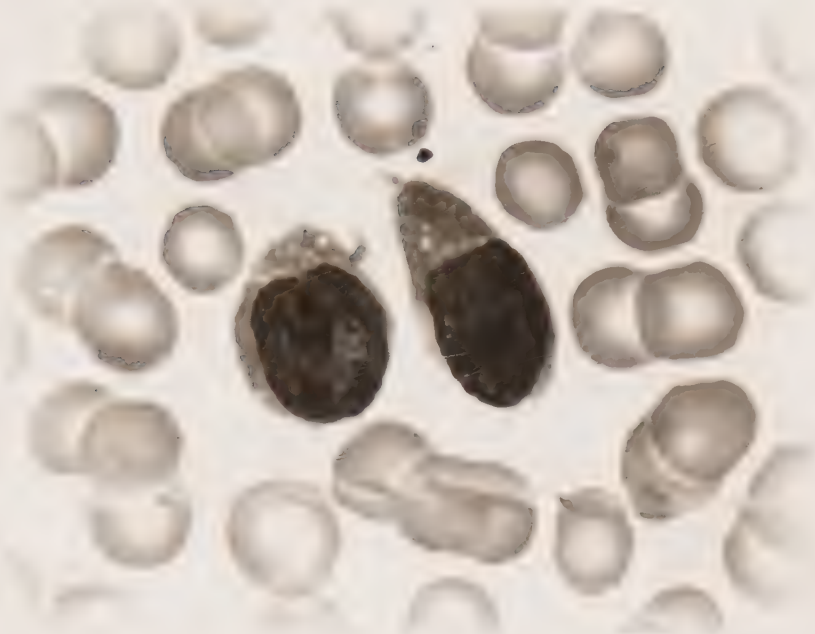
Abb. 14



Färbung: May-Grünwald-Giemsa

Vergrößerung: 2160x

Abb. 15



Färbung: May-Grünwald-Giemsa

Vergrößerung: 2160x

Zusammenfassend waren folgende Blutbildbefunde charakteristisch:

a) Prompter Abfall der Zahl der Lymphozyten bereits nach der 1. Injektion.

b) Verstärkung der Lymphopenie durch weitere Serumgaben.

c) Rückkehr der Lymphozytenzahl zu Normalwerten erst etwa 2 Wochen nach Beendigung der Serumapplikationen.

d) Die verwendeten ATG hatten einen etwas ausgeprägteren lymphopenischen Effekt als das ALG.

e) Eine konstante Zunahme der Zahl der lymphoiden Zellen, die um den 6. - 8. Tag begann und auch noch 2 Wochen nach Beendigung der Seruminjektionen fortbestand.

f) Im Gegensatz zur Lymphopenie entwickelte sich eine Leukozytose. Diese trat meist schon 24 Stunden nach der 1. Injektion auf, verstärkte sich jedoch in der postoperativen

Phase. Eine mäßige Leukozytose ist jedoch auch noch 2 Wochen nach Beendigung der Injektionen zu verzeichnen gewesen.

g) Granulozytopenien waren nur nach Applikation des PALS bzw. PALS zu beobachten. Sie traten in den ersten 4 Tagen in Erscheinung und deuten auf das Vorhandensein antigranulozytärer Antikörper in diesem Serum.

h) Während in der 1. Woche die erhöhten Leukozytenwerte (nach ATS-Gabe) durch eine Zunahme der Segmentkernigen bedingt war, hatten in der 2. Behandlungswoche die Stabkernigen und Jugendlichen einen oftmals größeren Anteil daran. In der 3. Woche, d.h. eine Woche nach Beendigung der Injektionen, klang diese Linksverschiebung unterschiedlich schnell ab.

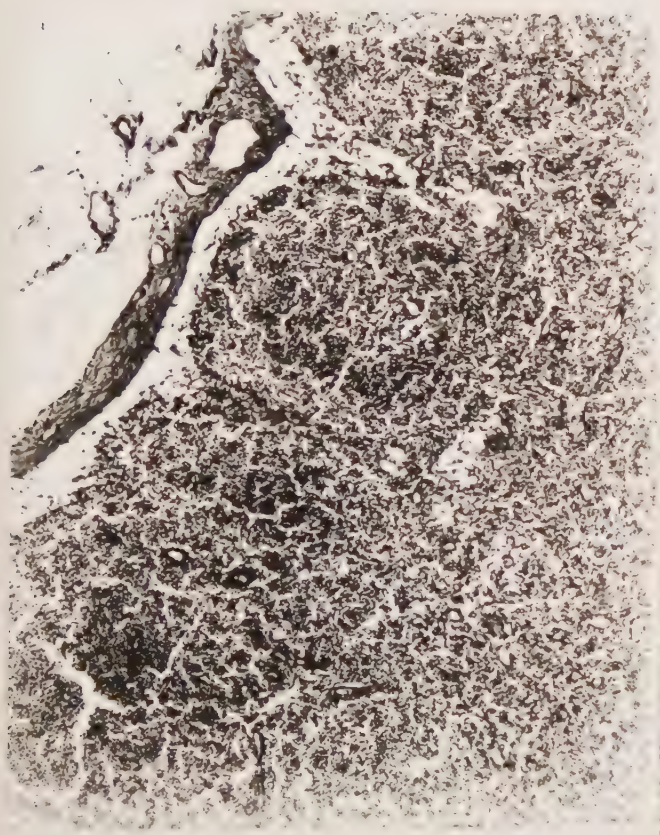
i) Die Eosinophilen zeigten ein indifferentes Verhalten.

4.4.2 Histologie lymphoider Organe

Auf Grund der genannten Blutbildveränderungen waren auch Veränderungen der Struktur der lymphoiden Organe denkbar. Der begrenzte Umfang des Tiermaterials erschwert dabei jedoch eine Aussage. Makroskopisch waren Lymphknoten und Milz der sezierten Tiere von normaler Größe, die Thymusdrüsen altersentsprechend. Da die Versuche an durchschnittlich 2 Jahre alten Hunden erfolgt waren, hatten die Thymusinvolution bereits ein Stadium erreicht, wo der Anteil des Fettgewebes den des Thymusgewebes weit überwog. Diese Befunde sind durch Vergleiche mit Hunden anderer Altersgruppen (1 und 2 Wochen, 6 Monate) belegt und stellen einen normalen Zustand dar. Nach Anwendung des ALS oder ATS konnten aus diesem Grunde auch keine deutlichen Veränderungen an den untersuchten Thymi festgestellt werden.

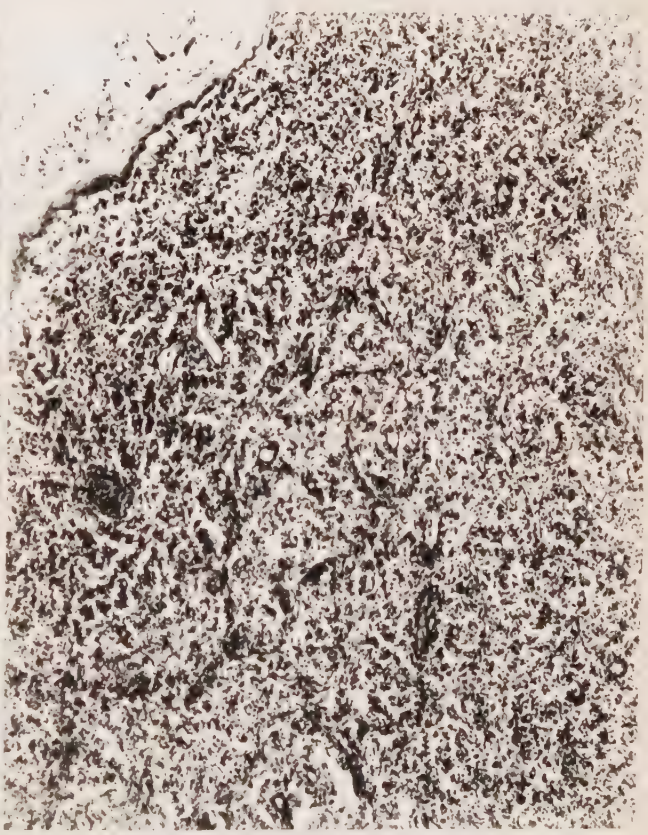
Ebenso bot die Milz nach Applikation dieser Sera keine histologischen Veränderungen. Ein unterschiedlicher Befund konnte dagegen an den histologisch untersuchten Lymphknoten erhoben werden. Während sich nach ATS-Applikation ein durchaus normales Bild zeigte, kam es nach ALS-Gabe zu einer Verarmung der kortikalen Zone an Lymphozyten. Auch die Keimzentren erlitten eine deutliche Reduzierung. Diese Befunde werden durch die Abb. 16 und 17 dokumentiert.

Abb. 16



Lymphknoten: normal

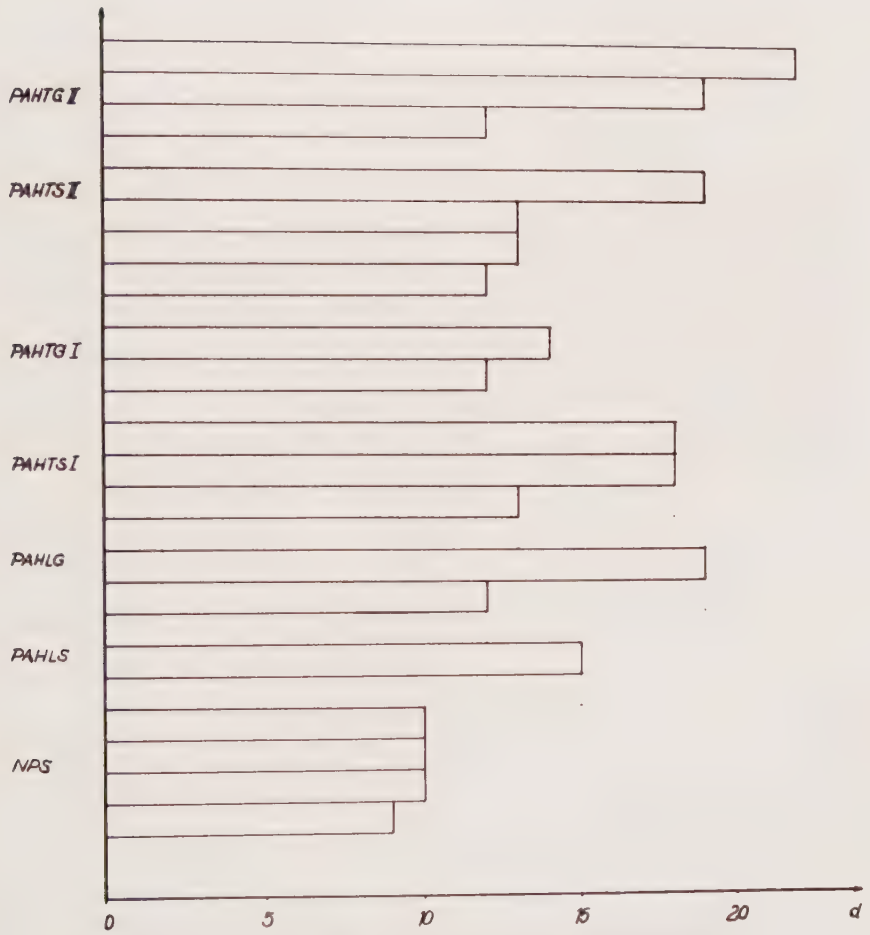
Abb. 17



Lymphknoten: nach 6 FALLS-Injektionen

4.2.3 Überlebenszeit von Vollhauthomotransplantaten

Abb. 18



Überlebenszeit von Vollhautallotransplantaten bei Bastardhunden

Aus Abb. 18 ist ersichtlich, daß mit allen Sera bzw. deren Globulinen eine Verlängerung der Transplantatüberlebenszeit erzielt werden konnte. Die Applikation eines Pferdenormalserums wies dagegen keinen verlängernden Effekt auf, die Hauttransplantate wurden nach durchschnittlich 9 - 11 Tagen ab-

gestoßen. Alle anderen Homotransplantate überlebten länger. Ein unterschiedlicher Effekt der einzelnen Cera konnte dabei nicht ermittelt werden. Als Rejektionszeichen dienten Transplantatverdickungen, -verhärtungen, Hämorrhagien und nicht nur auf die obersten Epidermisschichten sich erstreckende Nekrosen.

Obwohl eine Gruppe jeweils 4 Hunde umfaßte, konnten von insgesamt 28 Transplantaten (7 Gruppen, s. Abb. 10) nur 19 ausgewertet werden. Ursächlich kommen für dieses Resultat Sekundärinfektionen, die durch die nicht optimale Haltung der Tiere bedingt waren und eventuell eine mangelhafte Revaskularisierung in Frage. Die Hauttransplantation an Hunden stellt somit ein problematisches Modell dar. Selbst Autotransplantate, die als Kontrollen geführt wurden, zeigten kaum das eigentlich zu erwartende positive Resultat. Neben Mißerfolgen durch Sekundärinfektionen kam es auch hier bei einigen Tieren nicht zum Angehen der Transplantate. Andererseits erfuhren angewachsene Transplantate Reduktionen auf 50% und später auf 25% ihrer ursprünglichen Größe.

4.2.4 Beurteilung des Allgemeinzustandes

Nachdem alle Tiere der Normalserum-Gruppe die ersten Injektionen gut vertragen hatten, erbrachen alle Tiere nach der 9. und 10. Injektion. Die Nahrungsaufnahme war schon Tage vorher geringer. Unmittelbar nach den beiden letzten Injektionen zeigten die Hunde ein erschwertes Atmen, bisweilen knickten sie auch mit den Vorder- oder Hinterläufen ein. Möglicherweise zeigten sich hier erste anaphylaktoide Reaktionen, die auf die Sensibili-sierung mit dem Fremdeiweiß zurückzuführen wären. Ein Gewichtsverlust von 2 - 3kg war die Regel-

Nach dem Absetzen der Applikationen erholten sich die Tiere relativ rasch.

Während ein solcher Gewichtsverlust auch bei den Tieren der anderen Gruppen beobachtet wurde, waren jedoch keine anderen Spätreaktionen zu registrieren. Lediglich kurz nach der 1. Injektion erbrachen einige Tiere. Diese beim Menschen ebenfalls zu beobachtende Erscheinung könnte auf einer JARISCH-HERXHEIMER-ähnlichen-Reaktion beruhen (241).

5. Diskussion

Trotz noch zu besprechender mannigfaltiger Variationen verläuft die Herstellung antilymphozytärer Sera prinzipiell nach folgendem Schema: Als Immunisierungsmaterial dienen lymphoide Zellen verschiedenen Ursprungs: Ductus-thoracicus-, Milz-, Lymphknoten- oder Blutlymphozyten und Thymozyten. Nach einer eventuell notwendigen Reinigung von anhaftendem Bindegewebe, aber auch Serumproteinen, Erythro-, Granulo- oder Thrombozyten werden diese Zellsuspensionen in die als Serumspender dienenden Tiere (meist Kaninchen oder Pferde) injiziert. Applikationsweise, Zellzahl pro Injektion und Anzahl der Immunisierungsinjektionen werden dabei recht unterschiedlich gehandhabt, ebenso wie die Benutzung eines Adjuvans. Das gewonnene Antiserum wird anschließend komplementinaktiviert, gegen Erythrozyten absorbiert, sterilfiltriert und bis zur Anwendung bei -20°C gelagert. Das auf diesem Schema basierende eigene Vorgehen bei der ALS- bzw. ATS-Produktion ist eingehend unter Punkt 3.1 beschrieben worden. Zur Anwendung kamen Lymphozyten aus dem peripheren Blut und Thymozyten.

Allein dieser simpel anmutende Vorgang war und ist Gegenstand vieler Diskussionen. Ein endgültiges Urteil wurde noch nicht

gefällt. Schon die Frage nach dem besten Immunisierungsgut läßt sich nicht exakt beantworten. So plädierten DEVILLARD und BROCHIER (210) für die Anwendung von Ductus-thoracicus-Lymphozyten und Thymozyten, jedoch nicht für Blutlymphozyten. Ähnlich negativ äußerten sich auch BALNER et al. (16) gegen die Benutzung von Milzzellen. Demgegenüber halten TOWNSEND et al. (241) die Anwendung von Milzzellsuspensionen, deren Präparation von IWANAKI et al. (124) beschrieben wurde, durchaus für effektiv. Die mitgeteilten Resultate entsprechen auch den Anforderungen, die an ein wirksames ALS gestellt werden müssen. Ähnlich positive Resultate hinsichtlich der Verträglichkeit und Wirksamkeit konnten auch STAWZL et al. (231) beobachten. Im Gegensatz dazu wurden von TRAUGH et al. (243) die Ductus-thoracicus-Lymphozyten als besonders gute Antigenquelle angesehen. Eine ähnliche Meinung vertraten auch KOIKOS et al. (259). Während ihre Antimilzzellensera von nur geringer immunosuppressiver Aktivität waren und die Antisera gegen Blutlymphozyten bzw. Blutlymphozytenmembranen katastrophale Thrombozytopenien verursachten, zeigten die Antisera gegen Ductus-thoracicus-Lymphozyten gute immunosuppressive Eigenschaften in vivo und in vitro, ohne dabei toxisch zu wirken. Auch FICHELMANN et al. (197) entschieden sich bei der Produktion eines ALS für den Menschen und für Hunde (189, 194) zugunsten der Ductus-thoracicus-Lymphozyten. Die angegebene Begründung ist durchaus einleuchtend. Bei der Verwendung von Zellhomogenaten besteht immer die Gefahr der Verunreinigung mit retikulären Elementen, Makrophagen und Gefäßendothelien. Daraus resultiert ein entsprechend großes Antikörperspektrum. Dagegen lassen sich aus der Lymphe große Mengen reiner Lymphozyten isolieren. Außerdem besteht der Vorteil gegenüber der Verwen-

dung von Blutlymphozyten in dem hohen Anteil rezirkulierender Lymphozyten in der Lymphe, unter denen sich die immunokompetenten Zellen befinden.

Obwohl in den eigenen Untersuchungen aus technischen Gründen periphere Blutlymphozyten als Immunisierungsgut zur Anwendung kamen, wurden die oben erwähnten katastrophalen Nebenwirkungen nicht beobachtet. Möglicherweise beruht das darauf, daß der Thrombozytengehalt des Immunisierungsgutes durch den Prozeß der Lymphozytenisolierung entscheidend vermindert werden konnte.

Ebenso unentschieden ist die Frage, ob die Anwendung eines Adjuvans sinnvoll ist. WOOD und WEISSENDORF (200) kamen bei der Untersuchung dieses Problems immerhin zu der Feststellung, daß ein mit Adjuvans hergestelltes ALS die größten Verlängerungen der Hauttransplantatüberlebenszeit im Gegensatz zu allen anderen getesteten Sera bewirkte. Eine größere Toxizität wurde dabei nicht beobachtet. Demgegenüber warnen [illegible] et al. (130) vor der Anwendung eines Adjuvans. Ihre Schlußfolgerungen aus den durchgeführten Experimenten lauten u.a.: a) Ein mit Adjuvnas hergestelltes ALS ist potentiell toxisch, b) die immunosuppressive Aktivität ist nicht notwendigerweise nach Adjuvans-Anwendung größer, c) mittels Adjuvans produzierte ALS können für den klinischen Gebrauch nicht empfohlen werden. Auch bei unseren Versuchen wurde auf die Benutzung eines Adjuvans verzichtet.

Eine allgemeingültige Antwort auf die Frage nach der notwendigen Zellzahl pro Injektion kann ebenfalls nicht gegeben werden. Gewöhnlich werden zwischen 10^8 - 10^9 lymphoide Zellen/Injektion benutzt. Jedoch kommen auch wesentlich größere Zellzahlen zur Anwendung (124). Die Gewinnung dieser Zellmengen

kann sich besonders bei einer ALS-Produktion für klinische Zwecke als handicap erweisen. Deshalb gingen GOLUB et al. (104) der Frage nach der Notwendigkeit solch hoher Zellzahlen für die Immunisierung nach. Ihre ausgedehnten Studien zeigten dabei, daß sehr wirksame ALS mit niedrigeren Dosen (1 - 10 x 10^6 Zellen/Injektion) erhalten werden können. Nach dem vorher Gesagten muß allerdings kritisch bemerkt werden, daß diese potenten Sera mittels Adjuvans hergestellt worden waren. Wie aus den Tab. 1 und 2 ersichtlich ist, lagen unsere Injektionsdosen im Rahmen der international üblichen Mengen.
Auf die Frage nach der effektivsten Immunisierungsdauer gibt es ebenfalls noch keine prinzipielle Antwort. Es läßt sich allerdings schon soviel sagen, daß bei Versuchen an Mäusen sehr wohl darauf geachtet werden muß, ob ein hyperimmunes oder hypoimmunes Antithymusserum zur Anwendung gelangt (s. Punkt 2). Eine Bestätigung dieser Befunde, die weitgehende Konsequenzen für die ALS-Produktion für klinische Zwecke gehabt hätte, wie das in der Fragestellung bereits betont wurde, konnte allerdings durch meine Ergebnisse nicht erhalten werden. Dagegen mag für eine ATS-Produktion der sich aus unseren Resultaten ableitende Hinweis berechtigt sein, daß durch eine Langzeitimmunisierung kein wirksameres Serum erhalten wird. Das hypoimmune ATS bot hinsichtlich des Prolongationseffektes als auch der Wirkung auf das Blutbild entsprechende Befunde. Die Anwendung hypoimmuner ATS würde also bei guter Wirksamkeit eine Einsparung an Zeit und Immunisierungsmaterial bedeuten. Beim ALS scheint dieses Problem dagegen nicht so akut zu sein. Die bis jetzt klinisch zur Anwendung gekommenen ALS waren in der Regel Hyperimmunsera. Als Nachteil zeigten sich allerdings recht häufig eine gewisse Paratoxizität.

Die Suche nach Methoden zur Steigerung der Wirksamkeit der Sera und zur Vereinfachung der Serumproduktion ergibt sich zwangsläufig aus den zitierten Beispielen. GOZZO et al. (103) sehen eine Möglichkeit in der Behandlung der Lymphozyten vor der Injektion mit 1,5 - difluoro - 2,4 - dinitrobenzen. Die damit gewonnenen Sera waren wirksamer und spezifischer gegen Lymphozyten gerichtet. Durch diese Behandlung werden die Zellmembranen rigider, die Zellen lysieren nicht in destilliertem Wasser und zeigen selbst nach längerer Aufbewahrung (mehr als 6 Monate) keine Veränderung in ihrer Antigenität. Hinsichtlich einer Bevorratung an Immunisierungsgut wäre das durchaus ein Vorteil. Für eine Aufbewahrung des Immunisierungsgutes schlagen NAKAMURA et al. (176) die Lagerung bei -196^{0C} vor. Das gäbe die Möglichkeit der Immunisierung mit individualspezifischen Zellen. Ihre Ergebnisse mit Milzzellen waren überraschend gut. Immerhin betrug der Anteil lebender Zellen nach 9 Wochen 96 - 99%.
Um die Spezifität und Wirksamkeit der Sera zu verbessern, kommen immer häufiger subzelluläre Fraktionen als Immunisierungsmaterial zur Anwendung (156, 165, 171). ZOLA et al. (268) konnten dabei stark immunosuppressiv wirkende Sera mit der mikrosomalen Fraktion von Mausethymozyten erhalten, nicht jedoch mit der Kern- und Mitochondrienfraktion. Diese drei Fraktionen aus Milzzellen waren weniger geeignet. Noch bessere Resultate erzielten NAGAYA et al. (174) mit der Ribosomenfraktion aus Mausethymi. Immerhin konnten sie die Hauttransplantatüberlebenszeit (AKR ——— CBA) im Mittel auf 89 Tage verlängern. Vergleichsweise betrug die Überlebenszeit nach Applikation eines ALS (Lymphknoten) 23 Tage und nach einem ATS (Thymushomogenat) 58 Tage.
Die noch zu besprechen sein wird, entstehen bei der ALS-Pro-

duktion erhebliche Mengen unerwünschter Antikörper, besonders gegen Erythrozyten und Thrombozyten. Die Möglichkeit einer spezifischen Immunosuppression ist in der gleichzeitigen Verabfolgung von Antigenmaterial mit dem spezifisch gegen dieses gerichteten Antikörper gegeben. Diese Methode erhielt schon früh bei der Verhütung der Rh-Sensibilisierungs praktisch-klinische Bedeutung (27, 28, 39, 50, 75, 85, 177, 216, 217). LAND et al. (140) versuchten dieses Vorgehen auch der ALG-Produktion zu erschließen. Um die unerwünschte Hämagglutininbildung zu vermeiden, injizierten sie einem Pferd periphere Lymphozyten von Patienten gemeinsam mit den vorher präadsorbierten Antikörper gegen menschliche Erythrozyten. Der Titerverlauf zeigte jedoch, daß lediglich nach der ersten Immunisierungsinjektion eine günstige Wirkung des Antierythrozytenserums eintrat. Eine endgültige Beurteilung dieses Verfahrens ist somit noch nicht möglich.

Bestimmte Nebenwirkungen einer ALG-Therapie lassen sich auf Antikörper zurückführen, die durch Kontamination des Immunisierungsgutes mit anderen Zellen entstehen, oder aber zu Kreuzreaktionen fähig sind (256). Ein Teil dieser Antikörper, die Hämagglutinine, kann durch nachfolgende Absorption gegen Erythrozyten entfernt werden. Gelegentlich wird über einen damit verbundenen Abfall des Lymphagglutinationstiters berichtet (193). Die eigene Vorversuche zeigten, konnte die Hämagglutininbildung auch nicht durch Behandlung des Immunisierungsmaterials mit Ammoniumchlorid verhindert werden. Die Antikörper gegen die Serumproteine lassen sich ebenfalls durch Absorptionen eliminieren. Alle Versuche jedoch, die antigranulozytären Antikörper zu beseitigen, sind bisher gescheitert (45).

Die Gefahr einer chronischen ALG-Applikation liegt vor allem

in der Antikörperbildung gegen das artfremde Eiweiß. Die Stärke der Reaktion hängt demzufolge von der Menge und Reinheit des verwendeten Serums ab. Aus diesem Grund war es notwendig, die antikörperhaltige Fraktion zu identifizieren und zu isolieren. PATEL-MOGHADAM et al. (61) konnten unter diesem Aspekt nachweisen, daß die γG-Globuline die Hauptträger der gegen die Lymphozyten gerichteten Antikörper sind. Mittels Absorptionsstudien wiesen LANCE (135) und WOODRUFF et al. (266) nach, daß die relevanten Antikörper nur 1 - 5% des gesamten Serum-IgG ausmachen. Neben den antilymphozytären Komponenten konnten sowohl im ALS (18%) als auch am ATS (3%) entzündungshemmende Faktoren isoliert werden, die auch von IgG-Spezifität sind, jedoch nicht lymphozytotoxisch wirken. Wie u.a. ANDERSON et al. (6) fanden, ist dabei die immunosuppressive Aktivität an das ganze Antikörpermolekül gebunden. Die Isolierung und Anwendung dieser wirksamen Fraktion scheint nach den Resultaten von PATEL-MOGHADAM et al. (62) um so wichtiger zu sein, als sie vom 12. - 14. Tag nach Injektion eines Pferd-anti-Hundelymphozytenserums präzipitierende Antikörper gegen das β-Lipoprotein das α_2-Makroglobulin und das Albumin des Pferdeserums im Hundeblut nachweisen konnten. Eine Antikörperbildung gegen das γG-Globulin wurde dagegen nicht ermittelt. Leider blieben gegenteilige Beobachtungen nicht aus. So berichteten BUTLER et al. (55) über die Antikörperbildung gegen Pferde-IgG bei Patienten, die mit Antilymphozytenglobulin behandelt worden waren. Die daraus resultierende rapide Immunelimination bedeutete natürlich einen Wirkungsverlust des ALG. Zur Unterdrückung dieser Antikörperbildung versuchte man die Erzeugung einer Toleranz gegen das IgG des Serumspenders im Rezipienten. Dieses Vorgehen beruht auf der Beobachtung, daß die Induktion

einer Immunantwort vermieden werden kann, wenn die Antigene vor der Applikation durch Ultrazentrifugation oder "biologische Filtration" (Zwischenpassage über einen tierischen Organismus) aggregatfrei gemacht worden waren. Es resultierte dann keine Immunität, sondern der spezifische Status der Nichtreaktivität (57, 61, 76, 78, 90, 96). HOWARD et al. (120) konnten die Richtigkeit dieser Vorstellung bei Mäusen, LAND et al. (139) bei Hunden und BUTLER et al. (55) beim Menschen nachweisen. Auch die Ergebnisse von DENMAN und FRANKEL (72) sprechen für diese Möglichkeit. Unter dem Aspekt, daß die Induktion eines "wasting syndroms" nach ALS-applikation bisher nur selten gelang (165), injizierten die Verfasser einigen Ratten, die vorher gegen Kaninchen-IgG tolerant gemacht worden waren, über einen längeren Zeitraum Antirattenlymphozytenglobulin. Nach 14-20 Tagen waren von 26 Tieren 20 moribund. Der Gewichtsverlust betrug bis zu 20% des initialen Körpergewichts. Dieser war von einer Lethargie, Inaktivität, Buckelbildung, Diarrhoe und Haarverlust, den Charakteristika eines "wasting", begleitet. Nichttolerante ALS-behandelte Kontrolltiere zeigten dagegen eine allgemein gute Konstitution. Einschränkend muß jedoch gesagt werden, daß eine Sensibilisierung mit dieser Methode nicht generell verhindert werden konnte (42, 97). Möglicherweise liegt die Ursache darin, daß eine Toleranz nur gegen die IgG-Fraktion erzeugt wurde, die jedoch nicht die gesamte Aktivität des ALS beinhaltet (81).

Ein wesentliches Problem bei der ALS-Anwendung stellt die vorherige Testung seiner Effektivität dar, um bereits vor einer Injektion dessen Wirksamkeit exakt bestimmen zu können. Man brauchte also die Gewähr, daß das in vitro-Ergebnis mit der in vivo-Wirkung korreliert.

Die häufigsten Methoden waren bislang Agglutinations- und Zytotoxtest. Der Agglutinationstest gestattet zwar die Aussage, ob im ALS agglutinierende Antikörper vorhanden sind, aber aus den ermittelten Titerstufen lassen sich weder der zu erwartende lymphopenische Effekt noch eine etwaige Verlängerung von Transplantatüberlebenszeiten einigermaßen genau ablesen. Die Ergebnisse aus meinen Untersuchungen (s. Tab. 3 und 4 und Abb. 18) sind eine Unterstützung dieser Aussage. Es konnte kein Zusammenhang zwischen Agglutinationstiter, Lymphopenie und Überlebenszeit homologer Hauttransplantate ermittelt werden. Noch problematischer sind die Rückschlüsse aus den Resultaten des Zytotoxizitätstests, der als Makro- und Mikrotest (9) ausgeführt werden kann. Auch der Leukozytenresistenztest (218, 219) ist in seinem Wesen nach ein zytotoxischer Test. Hierbei werden die Zellen in einer ersten Phase durch die Antigen-Antikörper-Reaktion geschädigt, was dann in einer zweiten Phase durch Anwendung eines hypotonen Milieus sichtbar wird. Die Aussagekraft dieser Zytotoxizitätstests scheint nach den Untersuchungen von BAETH und CASTRUP (24) doch recht mangelhaft zu sein. Die Verfasser schlossen in ihre Experimente DBA/2 -, AKR/N - und B10D2 - Mäuse einer alten und einer neuen Linie ein. Der Unterschied in beiden Linien besteht nur darin, daß den Mäusen der alten Linien die C5-Komponente des Komplementsystems fehlt. Nach ALS-Applikation prüften sie die Immunantwort auf Schaferythrozyten und fanden, daß die Mäuse beider Linien gleich empfindlich gegenüber dem ALS waren, d.h. relativ uniform mit einer Reduktion der plaque-formenden Zellen reagierten. Daraus schlußfolgerten sie, daß eine antikörpervermittelte komplementabhängige Immunozytolyse nicht für die ALS-Aktivität entscheidend sei. Dagegen halten sie es für möglich, daß das ALS über

die Immunadhärenz-Reaktion, die nur die Komponentkomponenten C1, 4, 2 und 3c erfordert (179), wirkt und so die Elimination der Lymphozyten durch die Phagozytose fördert. Aus den genannten Gründen wurde bei der eigenen Versuchsanordnung auf die Ausführung dieses Tests verzichtet.

Ein weiteres Testmodell bot sich mit der "mixed lymphocyte reaction" (MLR) an. SCHWARZ et al. (220) konnten zeigen, daß die Transformationsrate sank, wenn die Zellspender vorher einer ALS-Behandlung unterworfen wurden. Da hierbei nur der bereits eingetretene in vivo-Effekt nachgewiesen wird, kommt dieses Modell für die oben aufgeworfene Fragestellung nicht in Betracht.

Eine Abänderung dieses Verfahrens ist der von BROCHIER und REVILLARD (45) als Hemmung der "mixed lymphocyte reaction" bezeichnete Test. Unter dem Aspekt, daß sich mittels entsprechender ALS-Dosen die Aktivierung von Lymphozyten, die z.B. durch PHA, Tuberkulin oder allogene Zellen induziert werden kann, vermindern bzw. hemmen läßt, definierten sie den Hemmtiter als die höchste Verdünnung eines ALS, die die MLR um 50% reduziert. Immerhin stimmten ihre in vitro-Ergebnisse gut mit den Überlebenszeiten homologer Hauttransplantate bei Affen überein.

Auf der Grundlage einer Arbeit von ZALUSKY (207) über die einfache Bestimmung antikörperproduzierender Zellen, entwickelten DACIE und AITCHISON (10) den sogenannten Roseltenhemmtest, wobei Milzzellen nicht immunisierter Mause zuerst mit ALS inkubiert und dann mit Schaferythrozyten in Contakt gebracht werden. Anschließend erfolgt die Auszählung rosettenformender Zellen. Da hierbei mit sehr hohen Serumverdünnungen gearbeitet werden kann, scheint die Möglichkeit des Nachweises auch

kleinster Mengen antilymphozytärer Antikörper gegeben. Außerdem äußern sich die Verfasser sehr positiv über eine Korrelation zwischen Testergebnis und Überlebenszeit homologer Hauttransplantate.

Recht aussagekräftig scheint auch der von MAPPIN (151, 152, 153) angegebene Opsonisationstest zu sein, wobei die Veränderung der Leber-Milz-Verteilung radioaktiv markierter Thymuszellen, die nach in vitro-Kontakt mit dem ALS in normale Mäuse injiziert werden, gemessen wird. Dieser Lokalisationsindex soll direkt mit der Hauttransplantatüberlebenszeit und der Unterdrückung der Immunantwort gegen Schaferythrozyten übereinstimmen (155).

Auf einer ähnlichen Basis beruht ein Testmodell, bei dem die Zytoadhärenz von Lymphozyten, die vorher mit dem zu testenden ALS inkubiert wurden, zu Hausmakrophagen in vitro bestimmt wird. Nach BACH et al. (11) korreliert der dabei bestimmte Titer zytophiler Antikörper gut mit der Verlängerung der Überlebenszeit von Hauthomotransplantaten. Der Nachweis zytophiler Antikörper in heterologen ALS, die den initialen Schritt der Anlagerung der Lymphozyten an die Makrophagen bewirken, gelang GLAS (99) mittels Absorptionsverfahren.

Schließlich sei noch der Immunofluoreszenztest erwähnt. Hierbei wird nach stattgefundener Lymphozyten-ALS-Reaktion auf einem Objektträger Fluoreszin-markiertes Antiglobulin zugegeben, und danach werden die leuchtenden Zellen ausgezählt. Nach HILLMAN et al. (98) stimmen die Titer mit denen des Zytotoxizitätstests überein, wobei die beschriebene Reaktion jedoch komplementunabhängig ist.

Allein die Vielzahl der existierenden Testsysteme erlaubt die Schlußfolgerung, daß keines optimal ist. Aus diesem Grunde werden an den entsprechenden Zentren stets mehrere Testsysteme

kombiniert, um aus dem Vergleich der Ergebnisse einen ungefähren Eindruck von der Wirksamkeit des ALS zu bekommen.

Die Transplantation eines Organes zwischen genetisch differenten Individuen leitet einen immunologischen Prozeß ein, der mit der Abstoßung des fremden Gewebes endet. Ist dieses Organ Haut, so wird die Reaktion eine reine Wirt-anti-Transplantat-Reaktion sein, da die Haut keine immunologisch kompetenten Zellen enthält (207). Obwohl der Rejektionsprozeß gut bekannt ist, sind die Vorgänge bei der Antigenaufnahme aus dem Transplantat und bei dessen Zerstörung um so weniger klar. Immerhin konnte u.a. GOWANS (102) zeigen, daß schon bald nach der Transplantation der Haut in regionalen Lymphknoten zahlreiche pyroninophile Zellen auftauchen. Dabei soll das antigene Material über die afferenten lymphatischen Bahnen die immunologisch kompetenten Zellen im regionalen Lymphknoten erreichen. Eine Sensibilisierung kann also nur stattfinden, wenn die lymphatische Verbindung zwischen Wirt und Hauttransplantat gewährleistet ist (17). Damit ist allerdings noch keine Antwort auf die Frage nach dem Ort der Induktion gegeben. Der das homologe Hautstück drainierende Lymphknoten weist ungefähr 42 - 54 Stunden nach der Transplantation pyroninophile Zellen auf (53, 54), die später zahlenmäßig noch zunehmen und als Reaktion auf den antigenen Stimulus angesehen werden müssen. Endprodukt dieser Reaktion mit den Transplantatantigenen ist schließlich die Neubildung "immunologisch aktivierter Lymphozyten" (207). Diese aktivierten Zellen gelangen schließlich über efferente Lymph- oder Blutgefäße zum Transplantat und leiten damit die Rejektion ein.

Dieser kurze Abriß pointiert die zentrale Bedeutung der kleinen Lymphknoten. Es war daher eine naheliegende Schlußfolge-

rung, daß eine Verminderung dieser Zellen auch eine Abschwächung ihrer funktionellen Gesamtleistung bedeuten würde. Eine Möglichkeit zur Reduktion der Zahl der kleinen Lymphozyten stellt nun die Anwendung antilymphozytärer Sera dar. In der Tat muß man von einem guten ALS einen lymphopenischen Effekt über eine bestimmte Zeit erwarten. Wie aus Abb. 11 zu ersehen ist, konnten wir mit jedem der von uns hergestellten Sera eine anhaltende Lymphopenie erzielen. Sie gestattet doch die Aussage über eine vorhandene antilymphozytäre Wirksamkeit. Allerdings wird vor allem von den Arbeitsgruppen um WOODRUFF (262, 263) und MEDAWAR (145, 147), aber auch von anderen (70, 223), betont, daß der immunosuppressive Effekt nicht von der Lymphopenie abhängt. Dafür sprechen auch die Befunde nach Drainage des Ductus thoracicus. Trotz stärkerer Lymphopenie war die damit zu erreichende Immunosuppression wesentlich geringer als nach ALS-Gabe (263). Das wird als Grund dafür angesehen, die "zytotoxische Theorie" der ALS-Wirkung, d.h. den Wirkungseintritt durch die massive Zerstörung von Lymphozyten und eine daraus folgende Schädigung des lymphatischen Systems, abzulehnen (145, 146). Trotzdem werden immer wieder gewisse zytotoxische Wirkungen beschrieben. So fanden LAMY et al. (137) nach 90minütiger Inkubation von Rattenlymphozyten in einem ALS 70,1% der Zellen hochgradig verändert. Dabei waren schwere Zellschäden bereits nach einer nur 5 Minuten währenden Inkubation zu sehen. Ein bemerkenswerter Befund war die schnelle zahlenmäßige Abnahme der nicht membrangebundenen Ribosomen. Wenn mit diesen Experimenten eine gewisse elektive Wirkung des ALS gesehen wurde, so muß man doch den Versuchsansatz kritisch bewerten, da ein Verhältnis von 2×10^9 Lymphozyten und 1ml ALS bei den in vivo-Anwendungen sicherlich keine Rolle spielt.

Von LEVEY und MEDAWAR (146) wurde die Möglichkeit der Tötung (cesting) der Lymphozyten durch die antilymphozytären Antikörper diskutiert, so daß diese Lymphozyten danach ein homologes Antigen nicht mehr erkennen können ("Fließfeldung"-Theorie). Obwohl natürlich eine Absorption der Antikörpermoleküle an die Lymphozytenoberfläche stattfindet, so wird dieser Antikörper-Lymphozytenkomplex doch mehr schnell durch folgende Clearence und Degradation durch das RES entfernt (154), wohingegen nach der genannten Theorie einzelne der Antikörpermoleküle im Rezipienten Voraussetzung wäre.
Eine alternative Möglichkeit dazu ist die ebenfalls von LEVEY und MEDAWAR (145) vorgelegte ("sterile activation" - Theorie. Hierbei sollen die mit dem ALS reagierenden Lymphozyten eine Aktivierung in Sinne einer Umwandlung erfahren, wobei sie ihre gesamte immunologische Potenz verlieren. Unterstützt wird diese Theorie durch in vitro-Versuche, in denen eine mitogene Aktion des ALS nachgewiesen wurde (69, 105, 106, 109, 119, 146, 213). Auch die Resultate von DENMAN et al. (73) sprechen für diese Möglichkeit. Die Verfasser konnten nachweisen, daß das ALS eine intensive Proliferation von "precursor cells" bewirkte, die zu dem Erscheinen inkompetenter Lymphozyten im peripheren Blut führte.
Schließlich sei noch ein von GUTMANNet al. (112, 113) vorgeschlagener Wirkungsmechanismus erwähnt. Hierbei sollen sich die antilymphozytären Antikörper an das Xenotransplantat anlagern und es so zeitweilig vor der Abstoßreaktion des Wirtes schützen. Mögliche Angriffspunkte bestünden in der Neutralisation freier Antigene vom Transplantat bzw. in einer Verminderung der Sensibilisierung durch Abdeckung antigener Stellen.

Erwägungen über mögliche Wirkungsmechanismen antilymphozytärer Sera werden später angestellt.

Abgesehen von dem hier zitierten Hypothesen scheinen nach JERNE-NORDIN (126) zumindest für die antilymphozytären Sera folgende Wirkungen als gesichert zu gelten: Erstens ist die Hauptwirkung eines ALS auf die peripheren Lymphozyten gerichtet. Zweitens unterdrückt es die immunologische Potenz von thymus- und markabgeleiteten peripheren Zellen, obwohl drittens die Thymus- und Knochenmarkzellen selbst nicht alteriert werden, was die potenzierende Wirkung von Thymektomie und Bestrahlung erklärt.

Anstelle der sonst als Immunisierungsgut dienenden Lymphozyten aus Lymphknoten, Milz, Blut und Lymphe können natürlich auch Thymushomogenate bzw. -suspensionen zur Immunisierung verwendet werden. Auch ich benutzte in meiner Versuchsanordnung Thymozytensuspensionen als Immunisierungsmaterial zur Gewinnung hypo- und hyperimmuner ATS. Die Präparation ist ausführlich unter Punkt 3.1.2 beschrieben worden. Bereits 1965 erzielten NAGAYA und GILLIAM (172) mit einem ATS, das sie nach 5 Immunisierungsinjektionen gewonnen hatten, größere Hauttransplantatüberlebenszeiten bei Ratten als nach ALS-Gabe. Der Thymus zeigte nach der ATS-Applikation eine Verarmung an kleinen Lymphozyten und der lymphopenische Effekt war größer als nach ALS. Als mögliche Ursache diskutierten die Verfasser Antikörperwirkungen gegen einen humoralen Thymusfaktor. 1966 unterbreiteten LEVY und SEDARAT (146) Ergebnisse mit einem hypoimmunen Antimausethymusserum. Nach nur 2 Injektionen (am 2. und 5. postoperativen Tag) erreichten sie Transplantatüberlebenszeiten, die zwischen 17 und mehr als 40 Tagen rangierten. Ebenso konnten sie mit diesem Serum die "second-set reaction"

außerordentlich gut unterdrücken. Bezüglich der Wirkung diskutierten die Verfasser ebenfalls die Neutralisation eines im Thymus produzierten humoralen Faktors, auf den Unterschied zwischen dem prompten Wirkungseintritt nach ATG-Gabe und dem Resultat nach adulter Thymektomie verweisend, halten sie jedoch noch andere Angriffspunkte für möglich.

Im gleichen Jahr berichteten HIRSCHEL und BLUME (116) über Verlängerungen von Überlebenszeiten homologer Nierentransplantate bei Hunden, die nach einer einzigen Injektion eines hypoimmunen ATG zwischen 12 und 35 Tagen betrugen. Interessant war dabei die Feststellung, daß die Überlebenszeit nach Gabe eines ATG, das mit Thymuszellensuspensionen von Tieren unter zwei Wochen gewonnen wurde länger war als nach Applikation eines ATG, bei dem die Thymusspender älter als zwei Wochen waren. Für diese Aussage scheint uns allerdings die Anzahl der Versuchstiere zu klein zu sein. Auch bei Nieren-homotransplantaten konnten KRAF und BLUME (40) die "second-set reaction" mittels ATG-Applikation unterdrücken.

In detaillierten Studien über das Verhältnis von Immunisierungsmodus und in vivo-Immunosuppression kamen KRAF et al. (41) zu bedeutsamen Resultaten. Sie testeten Sera, die sie nach 2, 3 und 4 Immunisierungsinjektionen ($1,4 \times 10^9$ bis $2,0 \times 10^{10}$ Zellen/Injektion) gewonnen hatten auf ihre Wirksamkeit bei Nierenhomotransplantationen an Hunden. Dabei verdoppelte eine einzige Applikation des nach 2 Immunisierungsinjektionen erhaltenen Serums die Überlebenszeit. Eine maximale Immunosuppression erreichten die Verfasser mit Serum, die nach 3 i.v.-Immunisierungsinjektionen erhalten worden waren, wenn 4ml/kg Körpergewicht 2 Tage präoperativ und 1ml/kg und Tag postoperativ appliziert wurden. Der Einfluß des ATG auf das Blutbild

war interessanterweise nach 1ml/kg und Tag dadurch gekennzeichnet, daß es bei persistierend niedrigen Zahlen an kleinen Lymphozyten ab 2. bzw. 3. Tag nach Injektionsbeginn zu einem Anstieg der Zahl der großen lymphoiden Zellen kam. Dieser Effekt wurde auch in unseren Experimenten beobachtet, trat aber konstant erst zwischen dem 6. - 8. Tag ein. Zum Problem des Immunisierungsmodus lieferten DAVIS et al. (68) bedeutsame Testergebnisse. Sera mit hoher immunosuppressiver Potenz wurden bereits nach nur 2 Immunisierungsinjektionen erhalten. Wiederholte Immunisierungen führten zwar zu einem hoch bleibenden Agglutinationstiter, jedoch die immunosuppressive Potenz, gemessen an der Überlebenszeit homologer Hauttransplantate bei Mäusen, nahm progressiv ab. Noch verwirrender mag die Tatsache sein, daß bei in vitro-Versuchen die Stimulation der Lymphozyten zur Blastenbildung mit der Zahl der Boosterinjektionen anstieg, während in vivo die immunosuppressive Wirkung abnahm.

Hinsichtlich der Wirkungspreferenzen interpretieren SCHLESINGER und YRON (215) ihre Befunde dahingehend, daß das ATS eine Zellpopulation eliminiert, die durch eine hohe Konzentration an theta-Antigen charakterisiert ist. Das würde eine Unterstützung der Hypothese sein, daß das ATS, aber auch das ALS, selektiv die thymusabgeleiteten Lymozyten zerstören. Das theta-Isoantigensystem der Mäuse, das different zum H-2 System existiert, ist gekennzeichnet durch seine hohe Konzentration im Thymus und Gehirn (208, 209). Weitere Einzelheiten zur Wirkung von Antithymussera ermittelten NAGATA und KIMURA (173) auf Grund radioautographischer Untersuchungen. Eine ATS-Applikation führte dabei zu einer Verminderung des ^{3}H-Thymidin-Umsatzes, zu einer Vergrößerung des ^{3}H-Uridin-Umsatzes und zu

einer Reduktion des Thymusgewichtes. In histologischen Schnitten waren die Mehrzahl der ^{3}H-Uridin-markierten Zellen retikulo-epitheliale Zellen, die mehr in der Medulla als im Cortex gelagert waren. Interessanterweise erschienen die ^{3}H-Thymidin-markierten Lymphozyten in ansteigenden Zahlen in der Medulla und anderen Orten, wo die retikulo-epithelialen Zellen gehäuft auftraten. Die Verfasser glauben aus diesen Befunden ableiten zu können, daß die ^{3}H-Uridin-markierten retikulo-epithelialen Zellen aktiv in die Produktion eines humoralen Thymusfaktors, der für die Lymphozytopoiesis notwendig ist, eingeschlossen sind. Da nun als Immunisierungsmaterial Thymushomogenate zur Anwendung kamen, sehen sie die Möglichkeit, daß das ATS auch Antikörper gegen einen humoralen Thymusfaktor enthält. Mit der Applikation des ATS soll durch Inaktivierung dieses Faktors die Thymuslymphozytopoiesis unterdrückt werden, wodurch der verminderte ^{3}H-Thymidin-Umsatz verständlich wurde. Als Kompensationsmechanismus sollen nun die retikulo-epithelialen Zellen die Produktion dieses Faktors erhöhen. Das führt zu einem steigenden RNS-Stoffwechsel, sichtbar an dem vergrößerten ^{3}H-Uridin-Umsatz.

Daß der Thymus für eine normale immunologische Entwicklung unentbehrlich ist, steht heute außer Zweifel. Es konnte mehrfach gezeigt werden, daß dabei humorale Faktoren eine Rolle spielen. So läßt sich ein nach neonataler Thymektomie auftretendes "wasting syndrom" u.a. mittels Implantation von intakten Thymi in feinporigen Kammern vermeiden (131, 163). Werden neonatal thymektomierte Mäuse gravid, so bietet diese Gravidität einen signifikanten Schutz gegen das "wasting syndrom". Bei Abwesenheit des maternalen Thymus zeigten die Neugeborenen eine signifikante Gewichtszunahme ihrer Thymi (75, 132)

gegenüber Kontrolltieren, deren mütterlicher Elternteil nicht thymektomiert worden war. Bereits im Jahre 1956 beobachtete METCALF (158) bei Babymäusen nach Applikation von Plasma, das von Patienten mit chronischer lymphatischer Leukämie, Lymphosarkom oder Myelofibrose stammte, eine Lymphozytose, die durch Cortison und Oestrogen zu unterdrücken war. Gleichzeitig erwies sich diese Plasmaaktivität als hitzelabil. Die Quelle dieses "lymphocytosis stimulating factor" (LSF) scheinen die epithelialen Zellen der Thymusmedulla zu sein (159). Aus mehreren Gründen hält METCALF (160) die Klassifizierung des LSF als echtes Hormon für gerechtfertigt. So wird der LSF

1) in einem einzigen ductuslosen Organ produziert,
2) befindet sich im Plasma,
3) wirkt über eine Distanz auf seine Zielzellen,
4) ruft nach Injektion temporäre Effekte hervor,
5) kontrolliert über einen "feed-back" die LSF-Produktion im Thymus und
6) durchkreuzt die Speciesbarriere. Unter solchen Aspekten scheinen die oben zitierten Schlußfolgerungen von MAKARI und ZINKER (173) mit einiger Berechtigung gezogen worden zu sein. Möglicherweise kann man auf Grund der Interpretation des LSF als Hormon noch weitergehende Konsequenzen annehmen. Dabei würde es nach Anwendung hyperimmuner ATS durch eine Antikörperwirkung gegen ähnlich strukturierte hormonproduzierende Zellen (und nicht gegen das Hormon selbst!) zu einem Eingriff in das gesamte endokrine System mit einer Disproportionierung des ganzen Stoffwechsels und seinen deletären Folgen kommen (33). Die Ergebnisse aus den Versuchen an Mäusen (33), die eine hohe Mortalität ("wasting syndrom") nach Applikation eines hyperimmunen ATS aufwiesen, unterstützen diese Hypothese. Dabei scheint den

Ribosomen des Thymus eine besondere Bedeutung hinsichtlich der Verbindung mit thymus-spezifischen Antigenen zuzukommen. Immerhin weisen Antisera gegen die ribosomale Thymusfraktion bei Mäusen erhebliche immunosuppressive Potenzen auf (174). Diese sich aus der Arbeit an Nagern ableitenden Konsequenzen mußten natürlich an anderen Tieren nachgeprüft werden, um die Berechtigung zu einer Verallgemeinerung zu haben. In Abänderung dieser Resultate bei Nagern konnten jedoch [illegible] et al. (123) keine Differenzen im immunosuppressiven Effekt von ALG und ATG nach Anwendung bei lungenhomotransplantierten Hunden ermitteln. Als Zellspender für die Immunisierung von Pferden dienten neugeborene Hunde. Als Ursache des fehlenden Unterschiedes halten die Verfasser Speciesdifferenzen oder zu geringe Versuchstierzahlen für möglich. Da auch in unseren Experimenten keine Differenzen zwischen ALG und ATG festzustellen waren, müssen noch andere Gründe vorliegen.

Dazu sei im Gegensatz zu Mäusen an die fortschreitende Thymusinvolution bei Hunden mit zunehmendem Alter gedacht. Hinsichtlich des oben diskutierten LDT ist der Hinweis notwendig, daß der maximale Gehalt des Thymus an LDT bei Mäusen im jugendlich-adulten Leben (> 3 Monate) zu finden war. Außerdem gibt bei Mäusen und Ratten der Thymus erst kurze Zeit nach der Geburt Zellen frei, die für die immunologische Kompetenz des Organismus verantwortlich werden (7). Daraus resultiert auch die erfolgreiche Unterdrückung der Transplantationsimmunität mit einer kurz nach der Geburt durchgeführten Thymektomie (162). Anders liegen die Verhältnisse bei den Hunden. Hier erfolgt die Ausschwemmung der Thymozyten bereits zwischen dem 40. und 48. Tag der fetalen Entwicklung (7). Demzufolge hat der Thymus des Hundes zur Zeit der Geburt seine Aufgabe als Gründer und

"Stabilisator" des immunologischen Systems weitgehend erfüllt (31). Eine Thymektomie scheint demzufolge bei Hunden hinsichtlich der Unterdrückung der Transplantationsimmunität ohne größeren Erfolg zu sein (7, 31, 237).

Unter Punkt 2 stellte ich die Frage nach der Reproduzierbarkeit der im Kaninchen-Maus-System gewonnenen Ergebnisse im Pferd-Hund-System. Meine Ergebnisse zeigen jedoch, daß eine solche Reproduzierbarkeit nicht vorliegt. Dieses differente Verhalten bedarf natürlich einer Erklärung. Bei unserer Arbeit mit adulten Hunden müssen wir eine andere Situation des immunologischen Systems zum Ausgangspunkt der Betrachtungen machen. Die von mir untersuchte histologische Schnitte von Thymusdrüsen zweijähriger Hunde zeigten, überwog der Fettanteil bei weitem den des Thymusgewebes. Die Wirkung eines ATS auf einen solchen Thymus wird also einerseits zwangsläufig eine andere sein, als wenn das ATS auf einen leistungsfähigen Thymus trifft. Andererseits wird natürlich auch die Effektivität eines ATS vom Alter des zur Immunisierung verwendeten Thymusgewebes abhängen, zumal man annehmen kann, daß mit fortschreitender Involution die einzelnen Zellarten unterschiedlich schnell abnehmen. Daraus wäre zu schlußfolgern, daß infolge der besonders starken Verarmung an hormonbildenden Zellen in den von uns zur ATS-Produktion genommenen Thymi von halbjährigen Hunden die Antikörperbildung dagegen reduziert sein muß. Nach Applikation des so gewonnenen Hyperimmunserums würde sich aus diesem Sachverhalt das Fehlen einer möglichen Wirkung auf das endokrine System erklären. Somit verbliebe nach der Injektion in adulte Hunde nur eine Beeinflussung der thymus-abgeleiteten peripheren Lymphozyten. Möglicherweise ist in dieser veränderten Situation die Ursache zu suchen, daß keine Wirkungsdifferenzen

zwischen ALG, hypo- und hyperimmunem ATS auf die Transplantatüberlebenszeit bei den Hunden zu finden waren. Unsere Ergebnisse würden diese Ansicht unterstützen.

Die Bedeutung der Wahl des Immunisierungsgutes wird auch durch die Versuche von DAFROW et al. (67) unterstrichen. Die Verfasser benutzten fetale menschliche Thymuszellen als Antigen. Damit produzierten sie ein hypoimmunes ATS (2 Immunisierungsinjektionen). Mit einer Dosierung von 100mg Globulin/kg (3 x wöchentlich, 10 Applikationen insgesamt) erreichten sie Überlebenszeiten homologer Hauttransplantate bei Rhesusaffen von 44 - 47 Tagen. Diese Resultate erlauben den Vergleich mit denen, die nach Anwendung hypoimmuner ATS bei Nagern erhalten wurden.

Bei der Hauttransplantation kommen noch einige ungünstige Faktoren hinzu. Sie spielen bei der Vollhauttransplantation an Hunden eine besondere Rolle. So hat die Zeitdauer, bis das Transplantat vom Wirt her revaskularisiert wird und somit die Ernährung gewährleistet ist, entscheidenden Einfluß auf das Angehen der Haut. Andererseits ist die Gefahr der Sekundärinfektion, besonders bei nicht optimalen Haltungsbedingungen, groß. Überraschenderweise kam es drittens selbst bei orthotopen Autotransplantaten zu Reduktionskrisen, so daß das Transplantat schließlich nur noch 25% der ursprünglichen Größe aufwies. Trotz dieser negativen Einflüsse konnte mit Hilfe der Serumbehandlung die Überlebenszeit der Hauttransplantate in jedem Falle verlängert werden. Daß keine größeren Überlebenszeiten erreicht wurden mag daran gelegen haben, daß erstens die injizierte ALG- bzw. ATS-Menge nicht hoch genug war und zweitens generell nur 10 Injektionen pro Tier gegeben wurden. Ersteres ist unwahrscheinlich, denn bei Nierentransplantationen ist die-

se Dosierung ausreichend. Allerdings können natürlich die Überlebenszeiten von Haut- und Nierentransplantaten nicht schematisch verglichen werden. In diesem Zusammenhang verweisen [illegible] und [illegible] (257) auf fundamentale Differenzen in der Konstitution dieser zwei Gewebe, wie auch auf ihre Vulnerabilität gegen Alloimmunreaktionen, die in ihren Experimenten durch verlängerte Überlebenszeiten von Nierentransplantaten im Gegensatz zu Hauttransplantaten (Fisher ---- Lewis-Ratten) ihren Ausdruck fand. Allgemein wird die Behauptung akzeptiert, daß die Haut ganz besonders empfindlich gegen Immunreaktionen ist. Das mag auf die unterschiedliche Konovitalität beider Gewebe zurückzuführen sein, die ihre Ursache möglicherweise in der phylogenetischen Entwicklung der Organismen hat (83, 84).
Hinsichtlich der oben genannten zweiten Möglichkeit ist zu sagen, daß unsere Versuchsanordnung aus einer anderen Fragestellung resultierte. Es sollte kein Therapieschema erarbeitet werden, das längste Überlebenszeiten der Haut garantiert, sondern die Hauttransplantatüberlebenszeit diente als Parameter der in vivo-Effektivität unserer Sera. Diese konnte durch die Versuche belegt werden. Zweitens galt unsere Aufmerksamkeit eventuellen Wirkungsunterschieden der einzelnen Sera, wie das in den Versuchen an Mäusen beobachtet wurde. Das konnte bei Hunden nicht reproduziert werden. Mögliche Ursachen dafür sind bereits diskutiert worden.
Neben den beschriebenen und diskutierten Effekten auf das Blutbild und die Transplantatüberlebenszeit haben Veränderungen der histologischen Struktur der lymphoiden Organe ihrer Bedeutung. Trotzdem muß davon ausgegangen werden, daß das ALG und auch das ATS primär auf die zirkulierenden Lymphozyten wirken und erst danach auf das lymphoide Gewebe. Für das ATS fanden BARONI et

al. (19) bei Mäusen leichte bis schwere Lymphozytenverarmungen in den parakortikalen Zonen der Lymphknoten. Die Keimzentren schienen in der Größe reduziert. Pyroninophile Zellen in den parakortikalen und Plasmazellen im medullären Bereich waren ebenso ein konstanter Befund. Der Thymus hingegen zeigte nur eine leichte Verarmung an kortikalen Lymphozyten. Interessanterweise kam es im Knochenmark zu einem Anwachsen myeloider Zellen, was sicher als Kompensationsmechanismus für die antigranulozytäre Serumwirkung zu deuten ist. Diese Veränderungen wurden natürlich je nach Applikationsdauer und Serumwirksamkeit variieren. Immerhin zeigten von uns untersuchte Mäusethymi nach ALS-Gabe (hyperämisiert) eine völlig atypische Struktur mit einer auffallenden Armut an Lymphozyten im Kortexbereich (33).
Den morphologischen Beweis einer Verminderung der langlebigen Lymphozyten unter ALS-Applikation sehen TYLER et al. (248) in einer Lymphozytenverminderung der kortikalen und medullären Sinus, die normalerweise große Mengen davon enthalten sollen. Ein Einfluß auf die Keimzentren wurde hingegen nicht beobachtet. Dagegen sahen EARTH et al. (22) die prinzipiellen histologischen Veränderungen nach ALS und ATS in der Milz, wobei besonders die Hyperplasie der roten Pulpa, hervorgerufen durch pyroninophile Zellen, eine periarteriolläre Lymphozytendepletion und eine Abnahme der Zellzahlen in der marginalen Zone auffielen.
Lokalisationsstudien mit markierten antithymozytären Antikörpern (134) ergaben bereits 2 Stunden nach i.p.-Applikation hohe Konzentrationen in den parakortikalen Bezirken der Lymphknoten und rund um die Malpighischen Follikel der Milz. Auffälligerweise wurden nur relativ geringe Markierungen im Thymus gefunden.
Auf eine Abwesenheit der Keimzentren und eine Reduktion der kleinen Lymphozyten in den Lymphknoten ALS-behandelter Tiere

weisen besonders [illegible] und [illegible] (215) hin, wobei sie die ungewöhnlich großen Mengen an lymphoiden Zellen und Retikulumzellen hervorheben. Möglicherweise ist das Anwachsen letzterer ein kompensatorischer Vorgang, zumal ihre Proliferationsfähigkeit mittels ^{3}H-Thymidin-Markierung gezeigt werden konnte (71). Bei Hunden beschreibt PICHLMAYR (189) nach 5 Behandlungstagen einen Verlust der Lymphfollikel an kleinen Lymphozyten in Milz und Lymphknoten, wobei besonders die Follikelperipherie alteriert war. Die zu diesem Zeitpunkt noch großen Keimzentren waren später auffallend klein, die Follikelstruktur fehlte dann ganz.

Einen vieldeutigen Befund stellen die immer wieder zu beobachtenden Plasmazellvermehrungen in periarteriolen Gebieten und auch in den Follikeln besonders von Milz und Lymphknoten dar. Der spezifische Grund für das Ansteigen der Plasmazellzahlen ist unklar. Immerhin glauben TERMAN und FRASELL (72) dieses Ansteigen nicht als Immunantwort gegen Konstituenten des ALS werten zu können. Der Schluß scheint berechtigt, denn sie fanden in Lymphknoten toleranter (gegen Kaninchen-IgG) und normaler Ratten, denen beiden Kaninchennormalserum injiziert worden war, wesentlich weniger Plasmazellen als in den toleranten Ratten (gegen Kaninchen-IgG), denen ein Antilymphozytenglobulin appliziert worden war.

Auch GRAY et al. (106) beobachteten die stärksten Veränderungen in den Lymphknoten und etwas schwächer in der Milz. Bereits eine Woche nach Beginn der ALS-Behandlung kam es zu einer markanten Reduktion von Zahl und Umfang der Keimzentren. Die Stärke der Veränderungen nahm mit der Dauer der Behandlung zu.

Der Effekt unseres ALS (s. Punkt 4.2.2 und die Abb. 16 u. 17) entspricht hinsichtlich der Veränderungen der Lymphknoten-

histologie somit den aus der Literatur bekannten Bildern. Abschließend sei zu diesem Abschnitt noch gesagt, daß es ungefähr 2 Wochen nach dem Absetzen der ALG-Applikation zu einer fortschreitenden Repopularisierung durch lymphoide Zellen und dem Wiedererscheinen von Keimzentren kommt.

Neben den im Tierexperiment gesehenen guten immunsuppressiven Eigenschaften scheint jedoch auch die Tatsache berechtigt, daß die verbesserten Ergebnisse bei der Organtransplantation beim Menschen mit auf die Anwendung dieser Sera zurückzuführen sind (102). Bereits 1967 berichteten STARZL et al. (230, 252) über die Vorteile einer kombinierten Behandlung. Durch den Einsatz eines ALG bot sich ihnen die Möglichkeit, die Azathioprin- und Steroiddosierung wesentlich zu senken. Auch [illegible] et al. (8) kommen nach Studien über die Toxität von Imuran und Antilymphozyten-IgG zu dem Ergebnis, daß eine Kombinationsbehandlung die Gefahr einer Leberschädigung, die nach Imuran beobachtet wurde, deutlich reduziert.

Trotz aller Fortschritte auf dem Gebiet der Antilymphozytensera sind noch viele Probleme ungelöst. Sie erstrecken sich von der Herstellung, über antigenetischen Ausgangsmaterial, Standardisierung, Dosierung bis zum Behandlungsbeginn und der Dauer der Applikation. Trotz der bei einer klinischen ALG-Therapie zu beobachtenden Nebenwirkungen, wie Temperaturerhöhungen, Urtikaria, Serumkrankheit, anaphylaktische Reaktionen und Neuritiden (42), werden die Immunsuppressiva im allgemeinen und das ALG im besonderen so lange ihre Bedeutung erhalten, wie eine spezifische Toleranz klinisch noch nicht praktikabel ist (12). Möglicherweise könnte gerade das ALG die Induktion einer spezifischen Toleranz gegen ein Homoerantigen erleichtern. Ermutigende Berichte über derartige Tierexperimente liegen be-

reits vor (3, 45, 169, 201). Trotzdem wird es sicherlich noch ein weiter Weg, ehe dieses Ziel erreicht ist. Dabei muß der Analyse der zellulären Mechanismen der Toleranzinduktion das Hauptaugenmerk gelten. Weitere zu klärende Fragen umriß MITCHISON (164) auf dem 3. Internationalen Kongreß der Gesellschaft für Transplantation (Den Haag 1970). Dabei werden Fragen der Wechselwirkung zwischen Antigendeterminanten und ihrer Erkennungseinheiten, Probleme der Herstellung bzw. Benutzung gereinigter Antigenpräparationen in Form von Haptenen oder kompletten Antigenen und die Wechselwirkung thymus- und markabgeleiteter Lymphozytenpopulationen bei der Induktion einer Immunantwort zu klären sein und uns der Lösung dieser Aufgabe näherbringen. Möglicherweise stellt die Anwendung des ALS in Verbindung mit vitalem Antigen (zellulär oder subzellulär) dabei einen gangbaren Weg dar.

7. Zusammenfassung

Einleitend werden die vielfältigen Anwendungsmöglichkeiten antilymphozytärer Sera in Experiment und Klinik skizziert. Trotz der Mannigfaltigkeit der dabei erhaltenen Resultate sind eine Reihe von Fragen noch nicht gelöst. Aufbauend auf diesen Daten aus der Literatur, besonders jedoch auf den in unserem Labor erarbeiteten Ergebnissen, entwickelt sich die eigene Fragestellung. Ausgehend von der Tatsache, daß bei der Arbeit mit Mäusen hinsichtlich unterschiedlicher Wirkungen sehr wohl zwischen ALS und hyper- und hypoimmunen ATG unterschieden werden muß, sollte untersucht werden, ob sich solche Differenzen auch bei Hunden nachweisen lassen. Dazu war es notwendig, entsprechende Sera herzustellen und die Globulinfraktion zu isolieren. Als Immunisierungsmaterial dienten Blutlymphozyten, die über

Dederonfiltersäulen gewonnen wurden, sowie Thymuszellsuspensionen. Immunisierungsmodus und Serumbereitung werden eingehend beschrieben. Anschließend wurde die Wirkung der drei Sera, ihrer Globulinfraktionen und eines Pferdenormalserums auf das Blutbild, die Histologie lymphoider Organe und die Hauttransplantatüberlebenszeit bei Hunden untersucht. Dabei konnten durch das ALS (bzw. ALG) und die ATS (bzw. ATG) sowohl Lymphopenie als auch Verlängerungen der Transplantatüberlebenszeit nachgewiesen werden, ohne daß zwischen diesen beiden Phänomenen eine Korrelation besteht. Aus den erhaltenen Resultaten läßt sich kein Wirkungsunterschied ableiten. Mögliche Ursachen werden diskutiert. Ebenso wird zu den Fragen der Serumherstellung und in vitro-Testung kritisch Stellung genommen. Schließlich werden die zur Diskussion stehenden Hypothesen über die ALS-Wirkung gegeneinander abgewogen. Hinsichtlich möglicher ATS-Wirkungen wird die Bedeutung des Thymus für das immunologische Geschehen entsprechend gewürdigt. Trotz der Verbesserung besonders der Transplantationsergebnisse nach Anwendung antilymphozytärer Sera muß auf deren unspezifische Wirkungsweise hingewiesen werden. Aus diesem Grunde müssen gangbare Wege gesucht werden, um schließlich auch im adulten Leben eine spezifische Toleranz induzieren zu können. Möglicherweise könnte gerade das ALS in Verbindung mit vitalen Antigenen diese Induktion erleichtern.

<u>Literaturnachweis</u>

1. Abaza, H.M., B. Nolan, J.G. Watt, and M.F.A. Woodruff: Transplantation <u>4</u> (1966), 618

2. Abbott, W.M., H.B. Otherson, A.P. Monaco, T.L. Simmons, M.L. Wood, and P.S. Russell: Surg. Forum <u>17</u> (1966), 228

3. Abbott, W.M., A.P. Monaco, and P.S. Russell: Transplantation <u>7</u> (1969), 291

4. Agnew, H.D.: J. exp. Med. <u>128</u> (1968), 111

5. Amos, D.B., I. Bashir, W. Boyle, M. MacQueen, and A. Tiilikainen: Transplantation <u>7</u> (1969), 220

6. Anderson, N.F., E. James, and M.F.A. Woodruff: Nature <u>218</u> (1968), 771

7. Archer, O.K., W.D. Kelly, B.W. Papermaster, and R.A. Good: Fed. Proc. <u>22</u> (1963), 599

8. Aronsen, K.F., B. Husberg, and B. Phil: Acta chir. scand. <u>135</u> (1969), 475

9. Atai, M., and W.D. Kelly: Surg. Forum <u>17</u> (1966), 249

10. Bach, J.F., and B. Antoine: Nature <u>217</u> (1968), 658

11. Bach, M.K., J.R. Brashler, and R.J. Perper: Transplantation <u>9</u> (1970), 49

12. Balner, H.: 3rd Int. Congr. Transpl. Soc. (Abstr.), Den Haag 1970, p. 281

13. Balner, H., and H. Dersjant: Annual Report 1968 of the Radiobiol. Inst. TNO, Rijswijk, The Netherlands, p. 43

14. Balner, H., V.P. Eysvoogel, and F.J. Cleton: Lancet 1968/I, 19

15. Balner, H., and H. Dersjant: Nature <u>224</u> (1969), 376

16. Balner, H., H. Dersjant, and D.W. van Bekkum: Transplantation <u>8</u> (1969), 281

17. Barker, C.F., and T.B. Billingham:
Transplantation 5 (1967), 962

18. Baron, H.: Arch. Intern. Med. 126 (1970), 64

19. Baroni, C.D., J.S. Kimball, R.K. Ward, and R.D. Wagner:
Transplantaion 7 (1969), 303

20. Barth, R.F., and J. Southworth: J. Immunol. 101 (1968), 1203

21. Barth, R.F., J. Southworth, and C.M. Burger:
J. Immunol. 101 (1968) 282

22. Barth, R.F., R.L. Hunter, J. Southworth, and A.S. Rabson:
J. Immunol. 102 (1969), 932

23. Barth, R.F., P.H. Friedmann, and B.A. Wahgren:
Lancet 1969/II, 723

24. Barth, R.F., and G.F. Carroll: J. Immunol. 104 (1970), 522

25. Bauchinger, M., E. Schmid, and W. Land:
Klin. Wschr. 48 (1970), 499

26. Baum, J., G. Liebermann, and E.F. Frenkel:
J. Immunol. 102 (1969) 187

27. Bergmann, M.: Wien. klin. Wschr. 81 (1969), 750

28. Bergmann, M., H. Leinsinger, J. Pasdernik, and M. Waldler:
Wien. med. Wschr. 119 (1969), 9

29. Besredka, A.: Ann. Inst. Past. 14 (1900) 390

30. Bieber, C.P., E.E. Stinson, and E.H. Chumney:
Circulation 39 (1969), 567

31. Biege, G.: Biol. Rsch. 3 (1935), 89

32. Biege, G., und B. v. Broen:
Acta biol. med. germ. 22 (1969), 425

33. Biege, G., und v. Broen: Exp. Path. 4 (1970), 1

34. Biege, G.,und B.v. Broen: Exp. Path. 4 (1970), 211

35. Biege, G.,und B.v. Broen: Germ. Mittl.

36. Billingham, M.E.J., R.V. Robinson, and J.M. Gaugas:
Nature 227 (1970), 276

37. Biro, C.E., and G. Garcia: Immunology 4 (1965), 411

38. Boranić, M.: J. Nat. Cancer Inst. 41 (1968), 421

39. Börner, P., H. Deicher, H.E. Hoppe, H. Ritschhold, E. Holtz,
und A. Seifert:
Geburtsh. u. Frauenheilk. 29 (1969), 203

40. Braf, Z.F., and D.M. Hume, Surgery 66 (1969), 594

41. Braf, Z.F., W.A.B. Smellie, G.M. Williams, and D.M. Hume
Surg. Gyn. Obstet. 129 (1969), 71

42. Brendel, W.: 3rd Int. Congr. Transpl. Soc. (Abstr.),
Den Haag 1970, p. 145

43. Brendel, W., und R. Pichlmayr:
Dtsch. med. Wschr. 92 (1967), 549

44. Brendel, W., und W. Land: Dtsch. med. Wschr. 93 (1968), 2509

45. Brent, L., J. Hansen, and P.J. Kilshaw: 3rd Int. Congr.
Transpl. Soc. (Abstr., Den Haag 1970, p. 201

46. Brochier, J., and J.P. Revillard: 3rd Int. Congr. Transpl.
Soc. (Abstr.), Den Haag 1970, p. 83

47. Broom, E. v., and H. Riege: Exp. Path. 4 (1970), 217

48. Brune, K.: Z. ges. exp. Med. 151 (1969), 74

49. Brunstetter, F.H., and H.N. Claman
Transplantation 6 (1968), 485

50. Buchanan, L.J., R.E. Bell, E.J. Beck, and A.G. Taylor:
Lancet 1969/II, 288

51. Bunting, C.H.: Univ. Penn. Med. Bull. 16 (1903), 200

52. Burstein, N.A., and A.C. Allison: Nature 225 (1970), 1139

53. Burwell, R.G.: J. Anat. 95 (1961), 677

54. Burwell, R.G.: Ann. N. Y. Acad. Sci. 99 (1962) 821

55. Butler, W.T., R.D. Rossen, L.L. Marsh, M.E. DeBakey,
E.T. Diethrich, T.K. Brooks, D.A. Cooley, J.J. Tora,
R.E. Leachman, D.C. Rochelle, J.J. Trentin,
K.P. Judd, A.C. Beall, Jr., D.B. Jenkins,
R.O. Morgen, and V. Knight:
Nature 224 (1969), 856

56. Curraz, M., J. Traeger, D. Dries, J. Perrin, M. Daubier,
J. Brochier, C. Veysseyre, J. Prevor, P. Bryon,
A. Jouvenceaux, J.F. Archimbaud, P. Bonnet,
Y. Manuel, J.P. Bernhardt, Y. Traeger Douillet:
Rev. Inst. Past. 1967/68, 17

57. Cerilli, G.J., and R.C. Treat:
Transplantation 8 (1969), 774

58. Chew, W.E., E.J. Stephens, and J.F. Lawrence:
J. Immunol. 30 (1936), 302

59. Chew, W.E., and J.F.Lawrence, J. Immunol. 33 (1937), 271

60. Christian, H.A., and T.F. Leen:
Boston Med. Surg. J. 152 (1905), 397

61. Claman, H.: J. Immunol. 91 (1963), 833

62. Clunie, G.J.A., B. Nolan, K. James, J.G. Watt, and
M.F.A. Woodruff: Transplantation 6 (1968), 459

63. Cruickshank, A.H.: Brit. J. exp. Path. 22 (1941), 126

64. Currey, H.L.F., and M. Ziff: Lancet 1966/II, 889

65. Currey, H.L.F., and M. Ziff: J. exp. Med. 127 (1968), 185

66. Dalton, N.C., J.L. Touraine, M.F. Anderson, and
M.F.A. Woodruff: Nature 225 (1970), 1140

67. Darrow, C.C., II, G.E. LaFontaine, J.J. Smith, D.F. Martin,
K.A. Bell, and D.E. Kayhoe: 3 rd Int. Congr.
Transplant. Soc. (Abstr.), Den Haag 1970, p. 225

68. Davis, H.C., L.E. Cooperband, and J.A. Mannick:
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 133 (1970), 874

69. DeCosse, J.J., and S. Gelfant: Science 162 (1968), 698

70. Denman, A.M.: Clin. exp. Immunol. 5 (1969), 217

71. Denman, A.M., E.I. Frenkel, und M. Ziff:
Fed. Proc. 24 (1965), 305

72. Denman, A.M. and E.I. Frenkel: J. Immunol. 99 (1967), 498

73. Denman, A.M., E.J. Denman, and E.J. Holborow:
Nature 217 (1968), 177

74. Deodhar, S.D., G. Crile, Jr., P.F. Schofield:
Lancet 1968/I, 168

75. De Wit, C.B., L. Dorst-Eilers, Ch. M. v. d. Weerdt, and
G.J. Kloosterman: Brit. Med. J. 1968/4, 477

76. Dietrich, F., and W.O. Weigle: J. exp. Med. 117 (1963), 621

77. Domingo, E.O., and K.S. Warren:
Amer. J. Pathol. 52 (1968), 613

78. Dresser, D.: Immunology 5 (1962), 378

79. Elders, M.J., B.A. Farham, and E.R. Hughes:
J. exp. Med. 127 (1968), 649

80. Ellis, L.R., N. K. Lawson, D. Kirchheim, and C.V. Hodges:
J. Urol. 97 (1967), 84

81. Fateh-Moghadam, A., R. Pichlmayr, H.W. Jarosch v. Schweder,
und M. Knedel: Klin. Wschr. 45 (1967), 578

82. Fateh-Moghadam, A., R. Pichmayr, Ch. Morell, und M. Knedel:
Klin. Wschr. 45 (1967), 665

83. Fichtelius, K.E.: Exptl. Cell Res. 49 (1968) 87

84. Fichtelius, K.E., C. Sundström, B. Kullgren, and J. Linna:
Acta path. microbiol. scand. 77 (1969), 103

85. Finn, R., C.A. Clarke, W.T.A. Donohoe, R.B. Connell,
P.M. Sheppard, D. Lehane, and W. Kulke:
Brit. Med. J. 1961/1, 1486

86. Fisher, B.M., G. Dollman, and B. Fisher:
Nature 221 (1969), 287

87. Klexner, G.: Univ. Penn. Med. Bull. 15 (1902), 287

88. Kloerxhein, G.L.: Transplantation 8 (1969), 332

89. Koerster, J., J.-F. Lemelin, I. Green, and H. Benacerraff:
J. exp. Med. 129 (1969), 295

90. Krei, P., B. Benacerraff, and G.J. Thorbecke:
Proc. Nat. Acad. Sci. 53 (1965), 20

91. Krick, E.: Med. Klinik 62 (1967), 862

92. Krick, E., und E. Dickl: Klin. Wschr. 46 (1968), 1166

93. Kuchs, J.: Klin. Mbl. Augenheilk. 154 (1969), 777

94. Gaugas, J.M., and R.J.V. Rees: Nature 219 (1968), 418

95. Gaugas, J.M.: Nature 220 (1968), 1246

96. Gery, J., and B.H. Waksman: J. Immunol. 98 (1967), 447

97. Gewurz, H., A. Moberg, N. Johnson, F.L. Simmons, and
J.H. Najarian: 3rd Int. Congr. Transpl. Soc.
(Abstr.), Den Haag 1970, p. 225

98. Gilmerson, R.R., G.H. Scott, and L. Gaddy:
Amer. J. clin. Pathol. 53 (1970), 928

99. Gill, T.J.: J. Immunol. 102 (1969), 1523

100. Gledhill, A.W.: Nature 214 (1967), 170

101. Gościcki, J., T. Gościcka, W. Rudnicka, and R. Soblocki:
Bull. acad. Pol. Sci. 15 (1964), 145

102. Gowans, J.L.: Brit. med. Bull. 21 (1965), 100

103. Gozzo, J.J., A.H. Rule, and J.F. Gentile:
Transplantation 8 (1969), 338

104. Gozzo, J.J., M.L. Wood, I. Barrett, and A.F. Howes:
3 rd Int. Congr. Transpl. Soc. (Abstr.),
Den Haag 1970, p. 81

105. Gridsebeck, E., C.F. Nordman, and A. de la Chapelle:
Lancet 1963/II, 385

106. Grasbeck, R., C.I. Nordman, and A. de la Chapelle:
Acta med. scand., Suppl., 412 (1964), 39
107. Gray, J.G., A.P. Monaco, and P.S. Russell:
Surg. Forum 15 (1964), 142
108. Gray, J.G., A.P. Monaco, M.L. Wood, and P.S. Russell:
J. Immunol. 96 (1966), 217
109. Greaves, M.F., I.M. Roitt, R. Zamir, R.B.A. Carnaghan,
and M.C. Path: Lancet 1967/II, 1317
110. Grogan, J.B.: Arch. Surg. 99 (1969), 382
111. Grogan, J.B.: J. Reticuloendothel. Soc. (im Druck),
zit. nach 110
112. Guttmann, R.D., C.B. Carpenter, R.R. Lindquist, and
J.P. Merrill: Lancet 1967/I, 248
113. Guttmann, R.D., C.B. Carpenter, R.R. Lindquist, and
J.P. Merrill: J. exp. Med. 126 (1967), 1099
114. Haahr, S.: Acta path. microbiol. scand. 77 (1969), 167
115. Hartweg, H., H. Renner, und Kh. Renner:
Strahlentherapie 139 (1970), 37
116. Hinchey, E.J., and J.Q. Bliss:
Canad. Med. Ass. J. 95 (1966), 1169
117. Hirsch, M.S., A.J. Nahmias, F.A. Murphy, and J.H. Kramer:
J. exp. Med. 128 (1968) 121
118. Hoehn, R., and L. Simmons: Surg. Forum 17 (1966), 251
119. Holt, L.J., N.R. Ling, and D.R. Stanworth:
Immunochemistry 3 (1966), 359
120. Howard, R.J., S.F. Dougherty, and S.E. Mergenhagen:
J. Immunol. 101 (1968), 301
121. Huntley, R.T., P.D. Taylor, Y. Iwasaki, T.R. Marchioro,
H. Jeejeebhoy, K.A. Porter, and T.E. Starzl:
Surg. Forum 17 (1966), 230

122. Isaacs, A., and J. Lindemann:
Proc. Roy. Soc. B. 147 (1957), 268

123. Iwobuchi, K., H. Nagaya, R.C. Healy, and H.O. Mieser:
Transplantation 9 (1970), 558

124. Iwasaki, Y., K.A. Porter, J.R. Amend, T.L. Marchioro,
V. Zühlke, and T.E. Starzl:
Surg. Gyn. Obstet. 124 (1967), 1

125. James, K., and N.F. Anderson: Nature 213 (1967), 1195

126. Jeejeebhoy, H.F.: 3rd Int. Congr. Transplant. Soc. (Abstr.),
Den Haag 1970, p. 83

127. Kaden, J.: Immuntoleranz und Antilymphozytenseren.
Jahreskongreß der Deutschen Akademie für ärztliche
Fortbildung, 23. - 26. 11. 1970, Dresden

128. Kirme, D.K., and R.L. Simmons: J. Immunol. 98 (1967), 251

129. Kongshavn, P.A.L., and J.G. Bliss: Nature 226 (1970), 451

130. Koumans, R.K.J., J.R. Billote, and J.F. Burke: 3rd Int.
Congr. Transpl. Soc. (Abstr.), Den Haag 1970, p. 87

131. Krüger, G.: Dtsch. Med. J. 21 (1970), 26

132. Krüger, G.: Verh. dtsch. Ges. Path. 54 (1970), 175

133. Krüger, G., D.A. Malmgren, and C.F. Berard:
Transplantation: im Druck

134. Lance, E.M.: J. exp. Med. 130 (1969), 49

135. Lance, E.M.: In: Cell-bound immunity with special reference
to anti-lymphocyte serum and the immunotherapy of
cancer. Les Congrès et Colloques de l'Université
de Liège, Belgium 1967, p. 103; zit. nach 134

136. Lance, E.M., R.J. Ford, and M. Ruszkiewicz:
Immunology 15 (1968), 571

137. Land, W., H. Rudolph, und W. Brendel:
Blut 18 (1968), 1

138. Land, W., E. Frick, F. Sommer, W. Brendel, und
A. Baethmann: Klin. Wschr. 47 (1969), 633

139. Land, W., J. Seifert, A. Fateh-Moghadam, D. Hopf, und
W. Brendel: Z. ges. exp. Med. 151 (1969), 117

140. Land, W., W. Brendel, I. Pichlmayr, L. Wagner, Gg. Hess,
E. Schmittdiel, und H. Stritzinger:
Klin. Wschr. 48 (1970), 757

141. Law, L.W., R.C. Ting, and R.C. Allison:
Nature 220 (1969), 611

142. Leibowitz, S., L.A. Kennedy, and M.H. Lessof:
Lancet 1968/I, 569

143. Leibowitz, S., M.H. Lessof, and L.A. Kennedy:
Clin. exp. Immunol. 3 (1968), 753

144. Ledney, G.D., and D.W. van Bekkum: In: J. Dausset,
J. Hamburger and G. Mathé (Eds.): Advance in
Transplantation, Munksgaard 1967, p. 441

145. Levey, R.H., and P.B. Medawar:
Proc. Nat. Acad. Sci. 56 (1966), 1130

146. Levey, R.H. , and P.B. Medawar:
Ann. N. Y. Acad. Sci 129 (1966), 164

147. Levey, R.H., and P.B. Medawar: Surg. Forum 17 (1966), 247

148. Ling, N.R., E. Knight, D. Hardy, N.M. Stanworth, and
P.J.L. Holt: In: G.E.W. Wolstenholme and M. O'Connor
(Eds.): Antilymphocyte serum, CIBA Foundation
Study Group No. 29, London: Churchill 1967, p. 41

149. Locke, J.E., H.J. Immelman, R.O. Hymes, and A.C. Hunt:
Nature 217 (1968), 560

150. Manuel, Y., B. Poli, J.P. Bernhardt, J.P. Revillard,
D. Claudey, and J. Traeger:
Helv. Med. Acta 35 (1969), 3

151. Martin, W.J.: J. Immunol. 103 (1969), 979

152. Martin, W.J.: J. Immunol. 103 (1969), 990

153. Martin, W.J.: J. Immunol. 103 (1969), 1000

154. Martin, W.J., and J.F.A.P. Miller: J. exp. Med. 128 (1968), 855

155. Martin, W.J., and J.F.A.P. Miller: Int. Arch. Allerg. 35 (1969), 163

156. Mathé, G., J.L. Amiel, L. Schwarzenberg, J. Choay, P. Trolard, M. Schneider, M. Hayat, J.R. Schlumberger, and Cl. Jasmin: Brit. Med. J. 1970/II, 131

157. Mee, A.D., and D.M. Evans: Lancet 1970/I, 16

158. Metcalf, D.: Brit. J. Cancer 10 (1956), 431

159. Metcalf, D.: Brit. J. Cancer 10 (1956),442

160. Metcalf, D.: Ann. N. Y. Acad. Sci. 73 (1968,113

161. Metchnikoff, E.: Ann. Inst. Past. 13 (1899), 737

162. Miller, J.F.A.P.: Ann, N.Y. Acad. Sci. 99 (1962) 340

163. Mitchell, R.M., A.G.R. Sheil, C.F. Slafsky, and J.E. Murray: Transplantation 4(1966), 323

164. Mitchison, N.A.: 3 rd Int. Congr. Transpl. Soc. (Abstr.), Den Haag 1970, p. 283

165. Monaco, A.P., M.L. Wood, J.G. Gray, and P.S. Russell: J. Immunol. 96 (1966), 229

166. Monaco, A.P., W.M. Abbott, H.S. Othersen, R.L. Simmons, M.L. Wood, M.H. Flax, and P.S. Russell: Science 153 (1966), 1264

167. Monaco, A.P., M.L. Wood. B.A. van der Werf, and P.S. Russell: In: G.E.W. Wolstenholme and M. O'Connor (Eds.): Antilymphocyte serum, CIBA Foundation Study Group Nr. 29, London Churchill 1967, p. 111

168. Monaco, A.P., M.L. Wood, and P.S. Russell: Transplantation 5 (1967), 1106

169. Monaco, A.P., J. Gozzo, M.L. Wood, and A. Liegeois:
3rd Int. Congr. Transpl. Soc. (Abstr.),
Den Haag 1970, p. 259

170. Moorehead, T.G.: Practitioner 75 (1905), 733

171. Moynihan, F.C., J.P. Grogan, and J.D. Hardy:
Surg. Forum 18 (1967), 235

172. Nagaya, H., and H.O. Sieker: Science 150 (1965), 1151

173. Nagaya, H., and H.O. Sieker:
J. Immunol. 103 (1969), 778

174. Nagaya, H., C.N. McKenzie, Jr., K.H. Kilburn, and
H.O. Sieker: J. Immunol. 104 (1970), 511

175. Nahmias, A.J., M.B. Hirsch, J.H. Kramer, and F.A. Murphy:
Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 132 (1969), 696

176. Nakamura, H., B.J. Goldsmith, and A.W. Rowe:
Nature 219 (1968), 294

177. Niederhoff, H., J. Schneider, F. Stachow, und W. Künzer:
Dtsch. med. Wschr. 94 (1969), 1437

178. Niedieck, B., E. Borris, und O. Palacios:
Z. Immun. Allergie-Forsch. 137 (1969), 458

179. Nishioka, K., and W.D. Linscott:
J. exp. Med. 118 (1963), 767

180. Ono, K., C.R. DeWitt, J.H. Wallace, and E.S. Lindsey:
Transplantation 7 (1969), 122

181. Osoba, D.: J. exp. Med. 122 (1965), 633

182. Osoba, D.: Science 147 (1965), 298

183. Osoba, D., and J.F. A.P. Miller: J. exp. Med. 119 (1964), 177

184. Pappenheimer, A.M.: J. exp. Med. 26 (1917), 163

185. Penn, I., C.G. Halgrimson, and T.E. Starzl: 3 rd Int. Congr.
Transpl. Soc. (Abstr.), den Haag 1970, p. 125

186. Perper, R.J., E.M. Glenn, and B.E. Monovich:
Nature 223 (1969), 86

187. Pfisterer, H., R. Pichlmayr, E. Reinmel, H. Bolland, A.D. Tsirimbas, R. Hermann, K. Kuppelt, und W. Stich: Münch. med. Wschr. 93 (1966), 2159

188. Pichlmaier, H., und Th. Junginger:
Z. ges. exp. Med. 143 (1967), 293

189. Pichlmayr, R.: Herstellung und Wirkung heterologer Antihundelymphocytenseren. Habil.-Schrift, München 1968

190. Pichlmayr, R.: Klin. Wschr. 44 (1966), 594

191. Pichlmayr, R.: Langenbecks Arch. klin. Chir. 316 (1966), 542

192. Pichlmayr, R.: Med. Klinik 64 1969, 1187

193. Pichlmayr, R., und W. Brendel: In: E.H. Seiffert und H. Geißendörfer: Transplantation von Organen und Geweben, Thieme Stuttgart 1967, p. 97

194. Pichlmayr, R., W. Brendel, G. Beck, E. Schmittdiel, G. Tidow, und I. Pichlmayr:
Klin. Wschr. 45 (1967), 199

195. Pichlmayr, R., W. Brendel, und H. Zenker:
Surgery 61 (1967), 774

196. Pichlmayr, R., W. Brendel, und I. Pichlmayr:
Z. ges. exp. Med. 143 (1967) 313

197. Pichlmayr, R. W. Brendel, Gg. Beck, E. Schmittdiel, I, Pichlmayr., G. Thierfelder, A. Fateh-Moghadam, und W. Land: Klin. Wschr. 46 (1968), 249

198. Pichlmayr,R.,W. Brendel, und H. Zenker:
Münch. med. Wschr. 110 (1968), 893

199. Pirofsky, B., R.M. Reid, and E.J. Bardana: 3 rd Int. Congr. Transpl. Soc. (Abstr.), Den Haag 1970, p. 253

200. Pisano, J.C., J.T. Patterson, and N.R. Diluzio:
Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 132 (1969), 517

201. Possanza, G.J., and P.B.Stewart:
Clin. exp. Immunol. 6 (1970), 291

202. Preußner, S., und G. Prick: Folia haemat. 91 (1969), 369

203. Preußner, S.: Pers. Mittl.

204. Prindull, G., C. Hotes, H.-J. Meyer, und I. Richtering:
Dtsch. med. Wschr. 95 (1970), 1781

205. Rabinowitz, Y.: Blood 23 (1964), 811

206. Rabinowitz, Y.:Blood 26 (1965), 100

207. Ramseier, H.: Die Transplantationsreaktion als zelluläre Immunität. S. Karger, Basel (Schweiz) und New York 1969, S. 14

208. Reif, A.E., and J.M.V. Allen: J. exp. Med. 120 (1964), 886

209. Reif, A.E., and J.M.V. Allen: Nature 209 (1966), 521

210. Revillard, J.P., and Brochier: 3rd Int. Congr. Transpl. Soc. (Abstr.), Den Haag 1970, p. 223

211. Ricketts, H.T.: Trans. Chicago Path. Soc. 5 (1902), 178

212. Ritchie, W.T.: J. Path. Bact. 12 (1907), 140

213. Russell, P.S., and A.P. Monaco: Transplantation 5 (1967), 1086

214. Schermer, S.: Die Blutmorphologie der Laboratoriumstiere. J.A. Barth, Leipzig 1958, 2. Auflage, S. 85 - 99

215. Schlesinger, M., and I. Yron: Science 164 (1969), 1412

216. Schneider, J.: Med. Klin. 64 (1969), 578

217. Schneider, J.: Fortschr. Med. 87 (1969), 593

218. Schröder, J.: Klin. Wschr. 48 (1970), 806

219. Schröder, J., und H. Schröder: Klin. Wschr. 47 (1969), 277

220. Schwarz, M.R., R.W. Tyler, and N.B. Everett:
Science 160 (1968), 1014

221. Seamer, J., J.L. Barlow, A.W. Gledhill, and J. Hotchin:
Virology 21 (1963), 309

222. Shanfield, I., L.G. Ladaga, S.F.G. Wren, J.B. Blennerhassett, and L.D. MacLean: Surg. Gyn. Obstet. 127 (1968), 29

223. Shanfield, I., and L.D. MacLean: Canad. Med. Ass. J. 100 (1969), 925

224. Sheagren, J.N., and A.P. Monaco: Science 164 (1969), 1423

225. Sheagren, J.N., B.F. Barth, J.B. Edelin, and R.A. Malmgren: Lancet 1969/II, 297

226. Shellam, G.R.: Immunology 17 (1969), 267

227. Simmons, R.L., A.J. Czerkis, and R.J. Hoehn: Science 160 (1968), 1127

228. Speck, B., L.J. Dooren, J. de Koning, D.W. van Bekkum, J.G. Eernisse, F. Elkerbout, J.J. Vossen, and J.J. van Rood: 3rd Int. Congr. Transpl. Soc. (Abstr.), Den Haag 1970, p. 213

229. Stanbridge, E.J., and F.T. Perkins: Nature 221 (1969), 80

230. Starzl, T.E., K.A. Porter, Y. Iwasaki, T.L. Marchioro, and N. Kashiwagi: In: G.E.W. Wolstenholme and M. O'Connor (Eds.): Antilymphocyte serum, CIBA Foundation Study Group No. 29, London: Churchill 1967, p. 4

231. Starzl, T.E., T.L. Marchioro, K.A. Porter, Y. Iwasaki, and G.J. Cerilli: Surg. Gyn. Obstet. 124 (1967), 301

232. Starzl, T.E., T.L. Marchioro, R.B. Hutchison, K.A. Porter, G.J. Cerilli, and L. Brettschneider: Transplantation 5 (1967), 1100

233. Starzl, T.E., C.G. Groth, P.I. Terasaki, C.W. Putnam, L. Brettschneider, and T.L. Marchioro: Surg. Gyn. Obstet. 126 (1968), 1023

234. Stewart, T.H. and V. Cohen: Science 164 (1969), 1062

235. Stewart, T.H., and E. Bell: Nature 227 (1970, 279

236. Stewart, T.H., and E. Bell.: Laval Med. 41 (1970), 599

237. Than, S.R., F.H.C. Kina, C. Martinez, and K.B. Absolon: Surg. Forum 13 (1962), 53

238. Thierfelder, S., H.D. Müller, I. Kimura, F. Dörner, und H. Kulitz: Z. ges. exp. Med. 147 (1968), 44

239. Thind, I.S., and W.H. Price: J. Immunol. 103 (1969), 1424

240. Torelli, U., und G.L. Vaccari: Münch. med. Wschr. 112 (1970), 1580

241. Townsend, C.M., Jr., T.M. Vyvial, A.J. Wood, A.F. Remmers, Jr., S.K. Earles, C.U. Gonzales, G.A. Beathard, J.C. Fish, F. Munitz, M.C. Levin, and W.A. Ritzmann: Texas Rep. Biol. Med. 27 (1969), 497

242. Traeger, J., M. Carraz, D. Fries, J. Perrin, E. Saubier, J. Brochier, J.-P. Bernhardt, J.P. Archimbaud, F. Bonnet, C. Veyssere, M. Prevot, Y. Traeger-Fouillet, P.A. Bryon, et Y. Manuel: France Path. Biol. 16 (1968) 27

243. Traeger, J., M. Carraz, D. Fries, J. Perrin, E. Saubier, J.P. Bernhardt, J.L. Revillard, F. Bonnet, J.P. Archimbaud, and J. Brochier: Transplant. Proc. 1 (1969), 455

244. Trepel, F., R. Pichlmayr, I. Kimura, W. Brendel, und H. Begemann: Klin, Wschr. 46 (1968), 656

245. Tsirimbas, A.D., R. Pichlmayr, E. Hornung. H. Pfisterer, S. Thierfelder, W. Brendel, und H. Stich: Klin. Wschr. 46 (1968), 583

246. Tsirimbas, A.D., H. Pfisterer, E. Hornung, und R. Pichlmayr: Hämat. u. Bluttransf. 8 (1969), 174

247. Tursi, A., M.F. Greaves, G. Torrigiani, J.H.L. Playfair, and I.M. Roitt: Immunology 17 (1969), 801

248. Tyler, R.W., N.B. Everett, and M.R. Schwarz: J. Immunol. 102 (1969), 179

249. Waksman, B.H.: Int. Arch. Allerg., Suppl., 14 (1959), 1

250. Waksman, B.H., S. Arbouys, and B.G. Arnason: J. exp. Med. 114 (1961), 997

251. Waksman, B.H., and C. Wennersten: Int. Arch. Allerg. 23 (1963), 129

252. Waltman, S.R., H.S. Faulkner, and R.M. Burde: Invest. Ophthalmol. 8 (1969), 196

253. Waltman, S.R., R.M. Burde, and H.S. Faulkner: Transplantation 8 (1969), 147

254. Warren, K.S., E.O. Domingo, and R.B.T. Cowan: Amer. J. Path. 51 (1967), 735

255. Weil, R., III, and R.L. Simmons: Ann. Surg. 167 (1968), 239

256. Wheelock, E.F.: J. Bact. 92 (1966), 1415

257. White, E., and W.H. Hildemann, Science 162 (1968), 1293

258. Witz, I., Y. Yasuo, and D. Pressman: Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 122 (1966), 562

259. Woiwod, A.J., J.S. Courtenay, O.C. Edwards, B.A. Epps, R.P. Knight, B. Mossdale, A.W. Phillips, A. Rahr, D. Thomas, J.G. Woodrooffe, and H. Zola: Transplantation 10 (1970), 173

260. Wood, M.L., and H.M. Vriesendorp: Transplantation 7 (1969), 522

261. Wood, M.L., A.P. Monaco, J. Gozzo, and A. Liegeois: 3 rd Int. Congr. Transpl. Soc. (Abstr.), Den Haag 1970, p. 259

262. Woodruff, M.F.A.: In: K.E. Delifert und H. Geissendörfer (Hds.): Transplantation von Organen und Geweben, Thieme Stuttgart 1967, p. 93

263. Woodruff, M.F.A., and N.A. Anderson: Nature 200 (1963), 702

264. Woodruff, M.F.A., and N.F. Anderson: Ann. N. Y. Acad. Sci. 120 (1964), 119

265. Woodruff, M. F.A., N.F. Anderson, and H.H. Atasa: In: J.H. Joffey Ed.): The Lymphocyte in Immunology and Haemopoiesis, London: Edward Arnold 1966, p. 286

266. Woodruff, M. F. A., B.L. Reid, and K. James: Nature 216 (1967), 758

267. Zaalberg, O.B.: Nature 202 (1964), 1231

268. Zola, H., E. Rosedale, and D. Thomas: Transplantation 9 (1970) 259

An dieser Stelle möchte ich Herrn Prof. Dr. sc. med. L.-H. Zottler für die Vergabe des Themas und die Betreuung der Arbeit meinen Dank aussprechen. Auch Herrn Dr. rer. nat. H. Diego, der mir bei der Durchführung der Arbeit in theoretischen und praktischen Fragen uneigennützig half, möchte ich herzlich danken, ebenso wie Frau Doz. Dr. vet. med. habil. V. Schmidt für die tierärztliche Betreuung und Unterbringung der Pferde, sowie den Herren Dr. rer. nat. habil. H. Teichmann und Dipl.-Chem. H. Vogt für die Isolierung der Globuline und die Anfertigung der Kapier- und Immunoelektrophoresen.

L e b e n s l a u f

Am 4. August 1942 wurde ich, Jürgen Herbert Kaden, als Sohn des Arbeiters Herbert Kaden und seiner Ehefrau Anny Kaden geb. Tammer in Bischofswerda geboren. Von 1949 bis 1957 besuchte ich die Grundschule B und von 1957 bis 1961 die Goethe-Oberschule in Bischofswerda. Anschließend absolvierte ich ein Praktisches Jahr im Städtischen Krankenhaus Berlin-Buch. Meine Immatrikulation an der Humboldt-Universität zu Berlin erfolgte 1962. Nach sechsjährigem Studium beendete ich meine Ausbildung mit der Approbation als Arzt. Von 1969 bis 1971 war ich in der Deutschen Akademie der Wissenschaften , Arbeitsgruppe Transplantation, als Aspirant tätig. In dieser Zeit fertigte ich meine Dissertation an.